АКАДЕМИЯ НАУК СССР

ИССЛЕДОВАНИЕ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО АППАРАТА У ЧЕЛОВЕКА





АКАДЕМИЯ НАУК СССР

ОБЪЕДИНЕННЫЙ НАУЧНЫЙ СОВЕТ «ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ»

А. М. УГОЛЕВ, Н. Н. ИЕЗУИТОВА, Ц. Г. МАСЕВИЧ,
Т. Я. НАДИРОВА, Н. М. ТИМОФЕЕВА

ИССЛЕДОВАНИЕ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО АППАРАТА У ЧЕЛОВЕКА

(ОБЗОР СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ)



ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКА»
ЛЕНИНГРАДСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ
Ленинград · 1969

УДК 612.3.088

Исследование пищеварительного аппарата у человека. Обзор современных методов. Уголев А. М., Иезуитова Н. Н., Масевич Ц. Г., Надирова Т. Я., Тимофеева Н. М. 1969. Изд-во «Наука», Ленингр. отд., Л. 1—216.

Книга содержит попытку дать обзор современных методов и методических подходов в области исследования деятельности пищеварительного аппарата у человека. Наряду с характеристикой принципов исследования основных органов пищеварительного тракта (желудка, печени, поджелудочной железы и тонкой кишки) даются описания ряда важных методических приемов, в том числе разработанных авторами в Лаборатории физиологии питания Института физиологии им. И. П. Павлова АН СССР. Книга может быть использована как для ознакомления с методами исследования пищеварительной системы, так и в особенности при специальной работе по одной из указанных проблем. Илл. — 33, табл. — 10, библ. — 525 назв.

5-3-1
302-68 (II)

ОГЛАВЛЕНИЕ

Стр.

Александр Михайлович Уголев, Наталья Николаевна Иезуитова, Цезарь Генрихович Масевич, Тамара Яковлевна Надирова, Нина Михайловна Тимофеева

Исследование пищеварительного аппарата у человека

Обзор современных методов

Утверждено к печати Объединенным научным советом «Физиология человека и животных» Академии наук СССР

Редактор издательства *С. И. Налбандян*
Художник *И. П. Кремлев*
Технический редактор *Н. А. Кругликова*
Корректоры *Ж. Д. Андронова, Л. Я. Комм* и *Г. А. Мошкина*

Сдано в набор 13 XI 1968 г. Подписано к печати 8/IV 1969 г. РИСО АН СССР № 33-76В. Формат бумаги $60 \times 90^1/_{16}$. Бум. л. $6^3/_4$. Печ. л. $13^1/_2$ = 13.50 усл. печ. л. Уч.-изд. л. 14.61. Изд. № 4056. Тип. зак. № 1392. М-12465. Тираж 2000.
Бумага № 1. *Цена 1 р. 12 к.*

Ленинградское отделение издательства «Наука»
Ленинград, В-164, Менделеевская лин., д. 1

1-я тип. издательства «Наука». Ленинград, В-34, 9 линия, д. 12

ВВЕДЕНИЕ

Предлагаемая вниманию читателя книга представляет собой обзор современных методических подходов, используемых при исследовании пищеварительной системы. Первые варианты этой книги — методические обзоры, написанные сотрудниками Лаборатории физиологии питания Института физиологии им. И. П. Павлова АН СССР для Лаборатории. Эти обзоры неоднократно дополнялись и в конце концов в очень сжатом виде были опубликованы в коллективной монографии «Физиологические методы в клинической практике» под редакцией Д. А. Бирюкова (изд. «Медицина», Л., 1966).

Выход в свет этой книги всячески стимулировали многие наши коллеги, как своими настоятельными требованиями ее создания, так и ценными советами и критическими замечаниями.

Авторы исследования прекрасно понимают, как трудно дать полный и удовлетворительный обзор методов, используемых в столь быстро развивающейся и обширной области, какой является современная гастроэнтерология. Совершенно очевидно, что со временем эта книга будет заменена многотомным руководством, написанным многими представителями теоретической и прикладной гастроэнтерологии. Хотелось бы, чтобы этот труд помог читателю создать представление о современном уровне исследования функций желудочно-кишечного тракта и тех тенденциях, которые существуют в данной области.

Нужно заметить, — конечная цель всякого методического описания заключается в том, чтобы рассказать «как делать». Мы ставили своей задачей рассмотреть также другие вопросы, которые в такой же мере определяют методический уровень исследования: «когда делать», «что делать» и «зачем делать». Такой подход, как нам кажется, дает в руки исследователя не только определенные методические приемы, но и некоторую свободу в их применении. Кроме того, он позволяет трезво оценивать возможности и ограничения применяемых методов.

Мы хотели, чтобы у читателя сложилось ясное представление о том, что в настоящее время существует множество примерно равноценных способов изучения одного и того же показателя. В ряде случаев это не имеет научного смысла и должно служить предупреждением против неоправданного стремления к модификации существующих методов без серьезных оснований. Тем не менее, излагая лучшие или наиболее распространенные методы, мы в большинстве случаев кратко характеризовали их варианты или приводили соответствующие ссылки на них.

Книга построена следующим образом. Вначале дается крайне сжатая характеристика функций пищеварительной системы и принципов ее исследования. Далее следует теоретическое обоснование и описание методов исследования функций желудка, поджелудочной железы, желчевыделительной системы, тонкой кишки и, наконец, копрологический анализ. В виде отдельного приложения даны методы, разработанные или усовершенствованные Лабораторией физиологии питания и предназначенные для исследования пищеварительной системы как животных, так и человека. Понятно, что чисто экспериментальные методы, разработанные нашей Лабораторией, не могли войти в эту книгу. Мы отказались от описания рентгенологических методов и методов изучения двигательной функции пищеварительного аппарата, хотя первоначально предполагалось и то и другое. Такое решение вызвано очень многими причинами, одна из которых — невозможность вместить в рамки этого обзора изложение столь важных и требующих значительного места проблем.

Каждый гастроэнтеролог прекрасно понимает те трудности, с которыми столкнулись авторы этого обзора. Мы далеки от мысли, что все они успешно преодолены. Однако нами руководило желание присоединить свои усилия к общему труду и надежда, что эта книга может оказаться полезной.

ПИЩЕВАРЕНИЕ И ПРИНЦИПЫ ЕГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Пища, являющаяся источником энергетических и пластических ресурсов организма, усваивается после довольно сложной предварительной обработки, которая в наиболее общем виде сводится к гидролитическому расщеплению сложных органических веществ (полимеров) до сравнительно простых, лишенных видовой специфичности и пригодных к ассимиляции мономеров. Этот процесс осуществляется в желудочно-кишечном тракте человека и высших животных и известен под названием пищеварения. Здесь же происходит весьма сложный и активный по своей природе процесс всасывания. Желудочно-кишечный тракт человека дифференцирован на ряд отделов, каждый из которых выполняет строго определенные функции, которые в известных пределах могут меняться. Полностью пищеварительный цикл завершается при прохождении пищи через весь желудочно-кишечный тракт.

Прежде чем перейти к характеристике методов исследования различных органов пищеварительной системы, мы позволим себе рассмотреть некоторые общие аспекты пищеварительного гидролиза, его функциональную топографию и роль отдельных органов желудочно-кишечного тракта в осуществлении этого процесса. Более детально функциональная характеристика органов, участвующих в пищеварении, дается в связи с описанием методов их исследования в разделах, посвященных желудку, тонкой кишке, а также поджелудочной железе и печени соответственно.

Одной из важнейших функций пищеварительного аппарата является секреторная функция, осуществляемая крупными и мелкими железами. Пищеварительные железы располагаются в стенках пищеварительного канала (мелкие железы ротовой полости, желудочные и кишечные железы) или связаны с ним протоками (слюнные железы, поджелудочная железа, печень). Однако считать пищеварительные железы только внешнесекреторными — не совсем верно, так как в некоторых случаях в составе секрета выделяются гормоны. Кроме того, некоторые важные компоненты

секретов, в частности ферменты, секретируются не только в полость желудочно-кишечного тракта, но и во внутреннюю среду организма, что, возможно, имеет определенное физиологическое значение.

Ферменты, выделяемые в составе пищеварительных соков, обусловливают высокие скорости расщепления пищевых веществ. Общим для работы пищеварительного канала является то обстоятельство, что все ферменты осуществляют гидролиз пищевых веществ, т. е. расщепление сложных веществ с присоединением воды.

Обработка пищевых субстратов начинается в желудке, где происходит расщепление около 10% пептидных связей.

Наиболее важной стороной пищеварения является ферментативная обработка в тонкой кишке, происходящая с участием ферментов, выделяемых сюда поджелудочной железой, железами кишечника, а также желчи. Тонкокишечное пищеварение касается всех групп веществ — жиров, белков, углеводов, нуклеиновых кислот (Павлов, 1897; Бабкин, 1927, 1960, и др.). Наряду с этими давно и хорошо изученными процессами в тонкой кишке осуществляются некоторые другие процессы, происходящие за счет ферментов, прочно связанных с поверхностью кишечного эпителия. Это пристеночное (мембранное) пищеварение, обусловливающее промежуточные и заключительные стадии расщепления биополимеров и начало всасывания, в котором, по-видимому, решающую роль играют процессы активного транспорта через кишечную клетку. Сочетание интенсивного гидролиза и всасывания имеет огромное значение для поддержания высоких темпов пищеварения, так как продукты гидролиза непрерывно всасываются и таким образом поддерживаются благоприятные условия для эффективной работы пищеварительных ферментов (Уголев, 1963, 1965, 1966, 1967).

Судя по последним данным, по крайней мере у взрослого человека пищеварение и всасывание в основном завершаются в верхней четверти тонкой кишки (обзор: Wiseman, 1964). Далее по ряду кишечного тракта на первый план выступает обратное всасывание пищеварительных соков и формирование экскрементов. Этот процесс вместе с так называемым микробным пищеварением, подробно изученным в последнее время, происходит главным образом в толстой кишке. Таким образом, пищеварение и всасывание представляют собой чрезвычайно сложные процессы, нормальное протекание которых обусловлено взаимодействием множества разнообразных механизмов и требует поэтому их тонкой координации. Последняя осуществляется с помощью специальных регуляторных аппаратов, гормональной и в особенности нервной природы. Важно отметить, что очень часто расстройство деятельности пищеварительного тракта зависит не столько от нарушения собственно пищеварительных механизмов, сколько от механизмов,

регулирующих их нормальную деятельность и обусловливающих определенный уровень работы. С помощью системы регуляторов обеспечиваются также приспособительные изменения деятельности пищеварительных желез в связи с изменением режима питания и свойств поступающей пищи, а также при различных патологических состояниях.

Пищеварительные ферменты относятся к гидролазам.

Принято различать следующие группы пищеварительных гидролаз: карбогидразы (гликозидгидролазы) — ферменты, расщепляющие углеводы; протеазы (пептидгидролазы) — ферменты, расщепляющие белки и пептиды; липазы (гидролазы эфиров глицерина) — ферменты, расщепляющие жиры; нуклеазы — ферменты, расщепляющие нуклеиновые кислоты; фосфатазы (гидролазы фосфомоноэфиров) — ферменты, расщепляющие фосфорные эфиры различных веществ.

Для понимания механизма действия пищеварительных ферментов важно помнить, что часть из них синтезируется в активном виде (карбогидразы, липазы, эстеразы, нуклеазы, фосфатазы). Другие ферменты, это касается главным образом протеаз, синтезируются в виде проферментов, которые первоначально специфической ферментативной активностью не обладают и которые превращаются в ферменты (в нормальных условиях) уже в полости желудочно-кишечного тракта под влиянием специальных факторов. Для действия ферментов необходимо не только определенное значение pH среды, но и присутствие соответствующих активаторов: желчных солей для липазы, солей магния для пептидаз, хлоридов для амилаз и т. д.

За последнее время благодаря применению совершенных методов исследования ферментативной активности и новых методов разделения ферментов количество известных пищеварительных ферментов значительно возросло. Ниже дается краткая характеристика спектра ферментативной активности пищеварительных желез с учетом сведений, полученных в последнее время.

Карбогидразы

α-Амилаза (α-1.4-глюкан-4-глюканогидролаза) — фермент, вырабатываемый слюнными железами и поджелудочной железой человека, — является декстринирующим ферментом, т. е. ферментом, расщепляющим α-1.4-глюкановые связи в молекулах крахмала и гликогена до ди- и трисахаридов без значительного прироста редуцирующих сахаров. Фермент выделен в кристаллическом виде. Молекулярный вес α-амилазы около 40 000. Активатором фермента являются ионы хлора. Максимальная активность α-амилазы наблюдается при pH 6.8.

Глюкоамилаза (α-1.4-глюканглюкогидролаза) является собственно кишечным ферментом и синтезируется в клет-

ках кишечного эпителия. Фермент гидролизует α-1.4-глюкановые связи в полисахаридах, последовательно отщепляя остатки глюкозы от нередуцирующих концов цепей.

Олиго-1.6-глюкозидаза (олигодекстрин-6-глюканогидролаза), вероятно, синтезируется поджелудочной железой. Расщепляет α-1.6-глюкановые связи в декстринах и изомальтозе, образующихся при гидролизе крахмала и гликогена под действием α-амилазы.

К карбогидразам относятся также глюкозидазы — ферменты, расщепляющие природные и искусственные α- и β-гликозиды. Наиболее изученным ферментом из α-гликозидаз является мальтаза, обнаруживаемая в кишечных клетках, в поджелудочной железе, плазме крови и лейкоцитах. Фермент осуществляет гидролиз гликозидов, главным образом мальтозы, с освобождением глюкозы. В кишечных клетках человека обнаружено по крайней мере 5 мальтаз, 2 из которых способны расщеплять сахарозу (обзоры: Isselbacher a. Senior, 1964; Prader a. Auricchio, 1965).

Лактаза (β-глюкозидаза, β-D-глюкозид-глюкогидролаза) относится к собственно кишечным ферментам, синтезируемым кишечными клетками. Наиболее выраженная активность наблюдается в ранние периоды постнатального развития. Фермент гидролизует лактозу на составляющие ее моносахариды: глюкозу и галактозу. Оптимум действия наблюдается при pH 5.4—6.0.

Протеазы

Этот термин объединяет ряд наиболее хорошо изученных ферментов желудочно-кишечного тракта: пепсин, трипсин, химотрипсин, карбоксипептидазы и др.

Многие из них получены в кристаллическом виде.

Протеиназы желудочно-кишечного тракта синтезируются в виде неактивных предшественников или проферментов: пепсиногена, трипсиногена, химотрипсиногена, прокарбоксипептидазы, которые, попадая в пищеварительный тракт, превращаются в активные ферменты.

Пепсин относится к пептид-пептидогидролазам. Этот фермент гидролизует пептиды, особенно по связям, прилегающим к остаткам ароматических или дикарбоновых L-аминокислот. Пепсин расщепляет белки главным образом до полипептидов, хотя среди продуктов расщепления встречаются и низкомолекулярные пептиды и аминокислоты. Фермент содержится в желудочном соке и вырабатывается главными клетками слизистой желудка в виде неактивного профермента пепсиногена, который в присутствии соляной кислоты желудочного сока превращается в активную форму путем отщепления пептида (пепсин-ингибитор) с молекулярным весом 3100. С воздействия пепсина начинается процесс переваривания белков в желудочно-кишечном тракте.

Пепсин расщепляет почти все белки растительного и животного происхождения, за исключением протаминов и кератинов.

Молекулярный вес кристаллического пепсина 35 000, он наиболее устойчив при pH 5.0—5.5, оптимум действия при pH 1.2—2.4.

Т р и п с и н относится к пептид-пептидогидролизам. Гидролизует пептиды, амиды, сложные эфиры и т. д. по месту связей, в которых участвуют карбоксильные группы L-аргинина и L-лизина. Фермент секретируется поджелудочной железой и гидролизует в слабощелочной среде кишечного содержимого различные пищевые белки и полипептиды, поступающие из желудка в кишечник. Вырабатывается трипсин в виде трипсиногена, который активируется энтерокиназой (энтеропептидазой) путем отщепления гексопептида.

Кристаллический трипсин — белок, с молекулярным весом около 24 000 и изоэлектрической точкой, близкой к pH 10.5. Трипсин относится к эндопептидазам, т. е. разрывает пептидные связи не на концах (как экзопептидазы), а внутри пептидных цепей белковых частиц.

Х и м о т р и п с и н относится также к пептид-пептидогидролазам. Фермент гидролизует пептиды, амиды, сложные эфиры и т. д., в особенности по месту связей, в которых участвуют карбоксильные группы ароматических L-аминокислот. Химотрипсин является протеолитическим ферментом, вырабатываемым поджелудочной железой (ее ацинарными или экзокринными клетками) в виде профермента — химотрипсиногена, который превращается в химотрипсин под действием трипсина с отщеплением полипептида щелочного характера. Отличительной чертой системы химотрипсиноген—химотрипсин является существование ряда различных активных форм, большая часть которых получена в кристаллическом виде (химотрипсиногены A и B и др.).

Оптимум действия химотрипсина колеблется в пределах pH 7.6—8.2.

К а р б о к с и п е п т и д а з ы A и B являются протеолитическими ферментами, относящимися к группе пептид-пептидогидролаз. Карбоксипептидаза A гидролизует пептиды с отщеплением C-концевого L-аминокислотного остатка, если таковым не является остаток пролина или диаминокислоты. Карбоксипептидаза B гидролизует пептиды с остатками L-аргинина и L-лизина на C-конце, отщепляя этот остаток.

Ферменты образуются в поджелудочной железе в виде неактивных предшественников — прокарбоксипептидаз A и B, которые выделяются в кишечник и активируются под влиянием комбинированного действия трипсина и энтерокиназы (эндопептидазы) для карбоксипептидазы A и трипсина — для карбоксипептидазы B. Эти ферменты являются металлопротеидами, так как в состав их молекулы входит атом цинка. Молекулярный вес карбокси-

пептидазы А — 34 300, изоэлектрическая точка лежит при pH 6.0, оптимум действия находится при pH 7.5.

Лейцинаминопептидаза относится к группе α-аминопептид-аминоацидогидролаз. Гидролизует L-пептиды, отщепляя N-концевой остаток со свободной α-аминогруппой, особенно когда N-концевым остатком служит лейцин или сходная аминокислота.

Фермент обнаруживается в клетках слизистой тонкой кишки, поджелудочной железы и многих других тканях организма. Молекулярный вес фермента 75 000—80 000.

Дипептид-гидролазы включают ряд ферментов, из которых наиболее изучены глицилглициндипептидаза (глицилглицингидролаза) и глицил-l-лейциндипептидаза (глицил-l-лейцингидролаза), синтезируемые клетками кишечного эпителия и гидролизующие пептидные связи в соответствующих дипептидах. Для действия глицилглициндипептидазы необходимо наличие ионов марганца и кобальта.

Липазы (гидролазы эфиров глицерина)

Эта подгруппа ферментов относится к эстеразам, которые гидролизуют поэтапно преимущественно внешние (α-) эфирные связи с образованием β-моноглицеридов и жирных кислот. У человека обнаруживается в поджелудочной железе, а у новорожденных — в желудочном соке, поджелудочной железе и печени; относительно много липаз в грудном молоке. В определенных условиях липазы способны катализировать не только расщепление жиров, но и обратный процесс — синтез триглицеридов из жирных кислот и глицерина. Выраженное активирующее влияние на липазу пищеварительного тракта оказывают соли желчных кислот, мыла, альбумины, соли кальция. Оптимум pH липазы — около 9.0.

Моноглицеридлипаза (глицерин-моноэфиргидролаза) гидролизует эфирные связи β-моноглицеридов, образующиеся при гидролизе триглицеридов. Фермент синтезируется клетками кишечного эпителия.

Нуклеазы

Дезоксирибонуклеаза (дезокси-рибонуклео-деполимераза-дезоксирибонуклеат-олигонуклеотидогидролаза) — фермент, катализирующий расщепление — деполимеризацию дезоксирибонуклеиновых кислот (ДНК). Содержится в панкреатическом соке и почти во всех клетках живых организмов.

Фермент поджелудочного сока, действуя на ДНК, превращает ее в низкомолекулярные продукты, расщепляемые далее другими

ферментами до легко всасываемых веществ, являющихся продуктами ее полного переваривания.

Кристаллическая дезоксирибонуклеаза — белок с молекулярным весом около 63 000.

Рибонуклеаза (полирибонуклеотид-2-олигонуклеотидтрансфераза) — фермент, расщепляющий РНК. По характеру своего действия является фосфодиэстеразой, т. е. ферментом, осуществляющим перенос фосфатного остатка с образованием циклических фосфатов. Рибонуклеаза вырабатывается поджелудочной железой. Получена в кристаллическом виде. Молекулярный вес 13 000, изоэлектрическая точка при pH 7.8. Оптимум действия pH 7.7.

Специфически расщепляет РНК, а также некоторые полинуклеотиды, ее производные. В кишечном тракте вызывает расщепление РНК в основном до моно- и олигонуклеотидов.

Фосфатазы (гидролазы фосфомоноэфиров)

Эту группу составляют ферменты, катализирующие гидролиз эфиров фосфорной кислоты; они участвуют в углеводном, нуклеотидном и фосфолипидном обмене.

Фосфомоноэстеразы подразделяются на специфические и неспецифические. В свою очередь неспецифические фосфатазы делятся в зависимости от оптимума pH на щелочную фосфатазу (фосфомоноэстераза 1 имеет оптимум при pH 9—10) и кислую фосфатазу, среди которых различают фосфомоноэстеразу 2 (оптимум pH 4.6), фосфомоноэстеразу 3 (pH 3.4—4.2) и фосфомоноэстеразу 4 (5.2—6.2) (в эритроцитах).

Лецитиназы — ферменты, расщепляющие эфирные связи жирных кислот и фосфорной кислоты в молекуле лецитинов и кефалинов. В настоящее время различают 4 типа лецитиназ: A, B, C, D.

Лецитиназа A отщепляет от лецитина и кефалина одну молекулу ненасыщенной жирной кислоты, в результате чего образуется лизокефалин или лизолецитин — соединения, обладающие резко выраженным гемолитическим действием. Лецитиназа A содержится в секрете поджелудочной железы человека.

Лизолецитин образуется в кишечном тракте при действии лецитиназы A поджелудочной железы и инактивируется лецитиназой B, также выделяющейся с соком поджелудочной железы. Эта лецитиназа отщепляет от молекулы лизолецитина оставшуюся насыщенную жирную кислоту, в результате чего образуется глицерофосфорилхолин. Это вещество может, по-видимому, образовываться в кишечнике и при действии липаз, отщепляя от лецитинов сразу обе молекулы жирных кислот. В кишечнике обнаруживается также лецитиназа D (фосфолипаза D), отщепляющая от лецитинов и кефалинов соответственно холин или этаноламин.

Более подробно характеристики ферментов представлены в обзорах Самнера и Соммерса (1948), Диксона и Уэбба (1961, 1966), Ф. Б. Штрауба (1963) и ряде других доступных руководств.

Целый ряд обстоятельств, кажущихся интересными с рассматриваемых позиций, будут более подробно изложены в главах, посвященных методам исследования различных органов желудочно-кишечного тракта. Здесь мы позволим себе остановиться лишь на некоторых общих соображениях, относящихся к проблемам подбора методов исследования, оценки результатов и т. д. и, наконец, к новым тенденциям в гастроэнтерологии.

Чрезвычайно важно понимание того, насколько те или иные показатели отражают функциональное состояние органа или ткани, а также того, насколько используемые методические подходы адекватны для оценки этих показателей. Так, например, для секреторной функции желудка до последнего времени, согласно традициям, широко применяется исследование концентрации соляной кислоты (в лучшем случае измерение количества кислоты, выделенной за определенный период времени). Между тем, поскольку гидролиз пищевых субстратов осуществляется непосредственно ферментами, а возможность диссоциированного поражения протеолитической и кислотообразующей функций не вызывает сомнений, совершенно ясно, что большое значение для функциональной характеристики желудка имеет протеолитическая активность его содержимого (показатель, который исследуют крайне редко); можно говорить о благоприятствующей или тормозящей роли pH. Что касается адекватности методов для оценки показателей той или иной функции, то этот вопрос, как и многие другие вопросы методологии, часто представляется спорным. Хорошо известно, например, что протеолитическая функция желудка у человека обеспечивается несколькими протеазами. Измерение активности гастриксина и других пепсинов, находящееся в зависимости от подбора или синтезирования субстратов, в ближайшем будущем станет вполне возможным в клинике. Насколько такое дифференцированное определение необходимо и не следует ли ограничиться определением общей протеолитической активности желудочного сока — этот вопрос исследователь должен решать в каждом конкретном случае в зависимости от поставленных задач, имея при этом возможно более детальное представление об исследуемой функции.

При подборе приемов и методов исследования важно также учитывать следующее. В целом ряде случаев нарушения деятельности пищеварительной системы обусловлены повреждениями регулирующих механизмов. До определенного периода нарушения секреции, зависящие от нарушения регуляторных механизмов, не сопровождаются морфологическими изменениями в слизистой оболочке и носят функциональный характер. В таких случаях важен не только достаточно адекватный и точный метод регистра-

ции тех или иных показателей (скажем, фракционное зондирование, а не толстый зонд в случае желудка; в каких-то конкретных случаях исследование пристеночно локализованных ферментов, а не ферментов, действующих в полости тонкой кишки), но также правильный подбор стимуляторов деятельности соответствующих органов. Например, завтрак Эвальда—Боаса дает слишком обобщенную характеристику изменений желудочной секреции, тогда как использование стимуляторов, обладающих преимущественно рефлекторным и гуморальным действием, позволяет более точно определить нарушения рефлекторной или нейрогуморальной фазы секреции. Аналогично раздельное использование секретиновой и панкреозиминовой проб позволяет достаточно дифференцированно характеризовать функцию клеток, продуцирующих ферменты и отделяющих жидкую часть секрета.

При характеристике функций пищеварительной системы следует принимать во внимание (или хотя бы стремиться к этому) целый ряд обстоятельств, влияющих на оценку результатов исследования и правильность делаемых заключений. Хотелось бы обратить внимание на некоторые из них.

В биологии в отличие от физики значительно меньше учитывается искажающее влияние диагностических процедур, хотя в живых системах эффекты такого рода могут быть особенно велики. Речь идет, например, о зондировании, которое само по себе может менять секреторную деятельность пищеварительных желез. Доказано, в частности, что в некоторых случаях повышенная кислотность является прямым следствием зондирования. Аналогичного рода примером может служить также процедура введения парэнтеральных пробных раздражителей, сопровождающаяся большим или меньшим стимулирующим или тормозящим влиянием на секрецию желудка и поджелудочной железы. Значение этих факторов сводится к минимуму, если обследование производится в клинике, где воздействие их до некоторой степени уравнено у всех групп больных.

Влияние регулирующих механизмов секреции тесно связано с исходным функциональным состоянием органов пищеварительной системы, определяющим ее реактивность. Вопрос этот более подробно обсуждается в разделе, посвященном стимуляторам желудочной секреции. Заметим лишь, что степень возбудимости пищеварительных желез необходимо принимать во внимание при выборе стимуляторов секреции, а также при анализе результатов исследования. Важно также учитывать некоторую зависимость секреции от пола и возраста, а также суточные и другие периодические колебания реакции различных пищеварительных желез на воздействие одного и того же раздражителя.

При выборе методов, а также при оценке результатов исследования нельзя забывать о разрешающих возможностях того или другого метода. Например, при всех способах извлечения

желудочного сока неизбежна потеря некоторой части его, которая варьирует у разных субъектов и у одного субъекта в зависимости от метода извлечения и функционального состояния обследуемого. Лишь частично удается предотвратить смешение поджелудочного сока с желчью и желудочно-кишечным секретом при дуоденальном зондировании. Во всех этих и многих других случаях исследователь должен в полной мере отдавать себе отчет в том, до какой степени свободной от «помех» является получаемая им информация.

Понимание физиологических механизмов секреторной функции желудочно-кишечного тракта так значительно продвинулось вперед в последние десять лет, что трудно дать клиническое преломление всех имеющихся фундаментальных открытий. Мы попытаемся коротко остановиться лишь на некоторых тенденциях, кажущихся наиболее отчетливыми.

Одной из таких прочно установившихся в современной гастроэнтерологии тенденций является тенденция к количественному выражению показателей. Так, для характеристики кислотообразующей и протеолитической функций желудка наряду с концентрацией соляной кислоты и пепсина все чаще подсчитывают дебит-час кислоты и общую протеолитическую активность того или иного объема секрета, выделившегося за определенный отрезок времени.

В этой связи кажется целесообразным остановиться также на вопросе о стандартизации методов исследования.

Применение большого числа проб для изучения того или иного показателя с физиологической точки зрения обосновано при проведении в клинике научных исследований. Для практических же целей в клинике требуется достаточный, но ограниченный набор тестов, дающих возможность сравнительного анализа. Вполне понятно, например, что если одни исследователи при проведении максимальной пробы с гистамином учитывают секрецию в течение 30 мин. спустя 15 мин. после введения гистамина, а другие — в течение 1 часа и сразу же после введения гистамина, то получаемые данные не подлежат сравнению в виду своей неравнозначности. Теоретическое обоснование преимущественного использования того или иного раздражителя или способа применения определенного раздражителя сложно и не всегда имеет место. В частности, во многих случаях нельзя считать решенным вопрос о том, следует ли основывать заключение о состоянии той или иной функции на результатах применения максимальных раздражителей или, наоборот, бо̀льшую информацию принесет использование пороговых нагрузок. Часто совершенно игнорируется качественный компонент воздействия. Принято, например, говорить о силе того или иного стимулятора секреции. Между тем интенсивность сокоотделения — далеко не единственный критерий, характеризующий пробный раздражитель; не менее важными являются состав пищеварительного сока и механизм его отделения.

Несколько слов об общих принципах функционального исследования желудочно-кишечного тракта. В настоящее время подобное исследование осуществляется с помощью двух отличных друг от друга подходов, каждый из которых включает в себя множество методов. Один из этих подходов дает возможность судить о функциях органов пищеварения на основании данных, получаемых in vitro. Сюда относятся многочисленные методы зондирования с последующим макроскопическим, микроскопическим, химическим, бактериологическим анализом содержимого, а также цитологические, гистологические, гистохимические и биохимические методы исследования клеточного материала или ткани слизистой оболочки. Другой подход заключается в том, что соответствующие датчики вводятся в те или иные полости желудочно-кишечного тракта; получаемая информация позволяет судить об отдельных функциях органов пищеварения in situ. Полное совпадение при изучении некоторых показателей в условиях in vitro и in situ не всегда имеет место. Вполне понятно, что исследование функций желудочно-кишечного тракта при условии обычной жизнедеятельности организма при прочих равных условиях более предпочтительно, чем и объясняется все более широкое распространение методов in situ в экспериментальной и клинической гастроэнтерологии.

В заключение нужно отметить, что, несмотря на многочисленные трудности, в настоящее время гастроэнтерология располагает большим арсеналом средств для характеристики функционального состояния различных органов пищеварительной системы и протекания процессов пищеварения и всасывания в целом.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕКОТОРЫХ ФУНКЦИЙ ЖЕЛУДКА

Основные функции желудка — депонирование и постепенная эвакуация пищевых масс в кишечник, а также начальные стадии гидролиза, главным образом белкового. Переваривание в желудке поверхностно, однако оно имеет большое значение для дальнейшей обработки химуса в кишечнике.

Поступающая из ротовой полости пища накапливается в желудке и постепенно пропитывается желудочным соком, который обладает ферментативной активностью, способностью денатурировать клеточные структуры, вызывать их набухание (за счет соляной кислоты) и выраженными антибактериальными свойствами.

При обычном питании (дефинитивном) концентрация кислоты в желудочном соке колеблется от 0.4 до 0.5%, варьируя в зависимости от свойств и количества пищи. В общем концентрация соляной кислоты в желудочном соке, как правило, пропорциональна скорости его секреции.

Долгое время считалось, что ферментативные свойства желудочного сока обусловлены только пепсином. В последнее время, однако, было показано, что, кроме пепсина, осуществляющего начальные стадии гидролиза белков (оптимум pH 1.2—2.4), желудочный сок содержит еще несколько близких к нему ферментов. Это так называемые парапепсины, желатиназа, гидролизующая желатину (в естественных условиях обусловливает, по-видимому, расщепление коллагенов соединительной ткани), а также катепсины (оптимум pH 3.0—5.0), за счет активности которых, по мнению ряда исследователей, осуществляется более чем наполовину желудочное пищеварение на ранних стадиях онтогенеза. Несомненно существует и выделен в кристаллическом виде химозин, вызывающий створаживание и последующее расщепление белков молока. Этот фермент в значительных количествах присутствует в желудочном соке лишь в период молочного питания, действуя в отличие от пепсина в слабокислой и даже нейтральной среде.

Имеется также небольшое количество липазы, однако роль ее, по всей вероятности, невелика. В полости желудка действуют ферменты дуоденального сока, забрасываемого антиперистальтическими движениями. Такое «кишечное» пищеварение в желудке является нормальным при переваривании жирной пищи, а также встречается при некоторых патологических состояниях.

Состав желудочного сока (pH 0.8—1.5). (По: Уголев, 1961)

Органические вещества (0.4%)	Неорганические вещества (0.65—0.85%)
Протеазы:	Na^+, K^+, Ca^{++}, Mg^{++}, HPO_4^{--}, SO_4^{--}
пепсины	Хлориды ≈ 0.175 н. (175 мг-экв./л);
желатиназа	HCl ≈ 0.16 н. (160 мг-экв./л, или 0.6%)
химозин	
катепсины	
Липаза	
Муцин	
Внутренний фактор Кестла	

В желудочной секреции следует различать рефлекторную и нейрогуморальную фазы, которые, как показали последние исследования, создают своеобразную буферную систему, обеспечивающую нормальный ход желудочного пищеварения в целом. Кислое содержимое желудка вызывает торможение секреции гастрина. Если в первую фазу выделяется необычно много кислого желудочного сока, то ослабляется вторая, гормональная фаза. Напротив, при слабом отделении «аппетитного» сока происходит компенсаторное усиление второй фазы желудочной секреции.

Интенсивность, продолжительность секреции, состав, ферментные свойства желудочного сока меняются в зависимости от принятой пищи. Так, в лаборатории И. П. Павлова было показано, что наиболее кислый сок выделяется на мясо, менее кислый — на молоко и наименее кислый — на хлеб. Продолжительность секреции и количество сока уменьшаются в следующем порядке: хлеб, мясо, молоко. Концентрация пепсина самая высокая в хлебном соке, промежуточная — в мясном и самая низкая — в соке на молоко. В последние годы показано, что меняется не только концентрация различных ингредиентов, но и спектр ферментативной активности желудочного сока. Так, на мясо выделяется желудочный сок, который лучше расщепляет белки животного происхождения, тогда как желудочный сок, выделенный на хлеб, напротив, расщепляет растительные белки лучше, чем белки животного происхождения (Уголев, 1961). Установлено также, что белки животного происхождения лучше расщепляются при высоких кислотностях, тогда как растительные белки — при низких кислотностях. Таким образом, в здоровом организме имеет место четкая корреляция между изменениями в диете и секрецией желудка; тонкие приспособительные реакции секреторного аппарата обе-

2 Заказ № 1392

спечивают экономичную работу пищеварительных, в частности желудочных, желез при приеме соответствующей пищи.

Причинами нарушений секреторной функции желудка могут быть анатомические (чаще диффузные) изменения слизистой оболочки и нарушения регуляции секреторного процесса, иногда сочетающиеся в тех или иных вариантах. Так, в одних случаях снижение секреторной деятельности желудка зависит преимущественно от анатомических изменений слизистой оболочки, в других — от нарушения (торможения) нервной и гуморальной регуляции секреции. Можно допустить интенсивную нервную и гуморальную стимуляцию железистого аппарата желудка в сочетании с довольно значительным уменьшением количества желез. В таких случаях показатели секреторной функции желудка должны приближаться к нормальным. Слизистая оболочка желудка может быть без видимых анатомических изменений, но интенсивные нервные или гуморальные влияния приводят к увеличению ее секреторной деятельности. Длительное повышение секреторной функции желудка под влиянием стимулирующего воздействия нервной и гуморальной систем ведет к увеличению массы железистого аппарата (по типу рабочей гипертрофии), т. е. функциональные изменения могут приводить к изменению структуры слизистой оболочки. В каждом конкретном случае важно выяснить, с чем связано наблюдаемое нарушение деятельности желудка.

Одними из наиболее существенных показателей, могущих характеризовать функциональное состояние желудка, являются показатели его секреторной функции, в частности, выделение пепсина (основной показатель работы главных желез), кислотность желудочного сока (показатель деятельности обкладочных желез), а также интенсивность сокоотделения. Важнейшие данные могут быть получены при изучении желудочных слизей, а также с помощью цитологического анализа желудочного содержимого и слизистой оболочки желудка.

Методы исследования показателей той или иной функции желудка во многих случаях довольно многочисленны. Совершенно очевидно, что применение всех имеющихся методов, несмотря на диагностическую ценность каждого из них, исключено. В связи с этим клиницист прежде всего должен решить вопрос об объеме предстоящего исследования в зависимости от того, какого рода информацию он желал бы получить у данного больного.

В своем изложении мы в основном придерживались принципа «функциональной систематизации» материала, так как вполне понятно, что сосредоточение в одном месте разнообразных методов исследования одной функции, скажем кислотообразующей или протеолитической, удобно для чтения. В большинстве случаев мы попытались наряду с описанием самих методов дать некоторую характеристику их возможностей при исследовании функций желудка.

ИЗВЛЕЧЕНИЕ ЖЕЛУДОЧНОГО СОДЕРЖИМОГО И НАИБОЛЕЕ УПОТРЕБИТЕЛЬНЫЕ СТИМУЛЯТОРЫ СЕКРЕЦИИ

Прежде всего необходимо охарактеризовать приемы, позволяющие исследовать свойства желудочного сока у человека. Для извлечения желудочного содержимого натощак, а также после применения раздражителей служат специальные резиновые зонды. Развитие и совершенствование зондовых методов исследования, как известно, началось с 1869 г., когда Куссмауль использовал толстый желудочный зонд. В дальнейшем нашли применение мягкие резиновые зонды различных диаметров и конструкций, позволяющие извлекать содержимое из желудка достаточно продолжительный период времени. О некоторых функциях желудка можно с той или иной степенью точности судить на основании косвенных показателей, не прибегая к зондированию. Соответствующие методы рассматриваются в разделе, посвященном анализу компонентов желудочного содержимого.

Методы извлечения желудочного содержимого чрезвычайно многочисленны. Перечисление и описание всех их, по-видимому, малоинтересно, так как оно явилось бы повторением описаний, имеющихся в отечественной литературе. Мы позволим себе остановиться лишь на тех из них, которые кажутся наиболее целесообразными.

Ранее уже обсуждался вопрос о необходимости стандартизации методов исследования органов пищеварения. Одной из самых насущных является, по-видимому, проблема стандартизации методов извлечения желудочного содержимого. Действительно, если сужение количества стимуляторов желудочной секреции иногда ведет к уменьшению объема получаемой информации и должно проводиться с осторожностью, то серьезных ограничений к стандартизации методов извлечения желудочного содержимого в большинстве случаев не существует. Любой из стимуляторов секреции может быть с успехом использован в сочетании со стандартизированным методом извлечения желудочного содержимого.

Метод Лепорского. Больше всего отвечает современным требованиям несколько измененный метод Н. И. Лепорского (1928). Суть модификации его заключается в замене прерывистого откачивания (каждые 15 мин.) непрерывным извлечением содержимого с разделением его на 15-минутные фракции. Для непрерывного откачивания желудочного содержимого достаточно создание отрицательного давления в 60—70 мм рт. ст. (используется водоструйный насос). Дистальный конец желудочного зонда должен находиться в нижней трети тела желудка.[1] Откачивается тощако-

[1] Работами Айри (Ihre, 1954) и других исследователей было показано, что необходимая локализация зонда, как правило, может быть обеспечена, если длина введенной части зонда равна росту обследуемого (в см) минус 100 см. Однако введение в редких случаях зонда на большую глубину вызывает необходимость рентгенологического контроля его положения.

вая порция желудочного содержимого, затем в течение 1 часа исследуется базальная секреция (15-минутные порции собирают в отдельные сосуды), после чего вводится пробный раздражитель. Через 25 мин. после введения раздражителя содержимое желудка извлекается полностью. Далее в течение 1 часа откачиваются четыре 15-минутные порции, в которых пробный завтрак уже не должен содержаться. В подобной модификации метода Лепорского сохранены положительные стороны и устранены некоторые дефекты динамического исследования желудка тонким зондом. Пробный завтрак извлекается через 25 мин. после его введения, и, таким образом, возможно получение чистого желудочного сока за счет последовательной секреции в ответ на раздражитель.

Разделение откачиваемого из желудка содержимого на отдельные 15-минутные порции позволяет осуществить более тщательный анализ показателей секреции как в межпищеварительном периоде, так и после введения пробного завтрака. Секреторная деятельность у здорового человека подчинена определенным закономерностям. Непосредственно после введения раздражителя начинается интенсивная деятельность главных желез, которая в этом периоде преобладает над секрецией антрально-пилорических желез и клеток поверхностного эпителия. В связи с этим количество желудочного содержимого увеличивается в основном за счет секрета главных желез, обеспечивающего начальные стадии белкового гидролиза. В дальнейшем интенсивность деятельности главных желез уменьшается и преобладает выделение щелочного секрета, что приводит к значительному снижению кислотности желудочного содержимого перед переходом его в двенадцатиперстную кишку. Таким образом, определение показателей секреторной функции желудка в 15-минутных порциях дает возможность точнее дифференцировать источник патологических отклонений, чем исследование этих же показателей в содержимом, собираемом в течение более длительных промежутков времени.

Вопрос о значении полного извлечения желудочного содержимого более подробно обсуждается в разделе, посвященном кислотности желудочного содержимого. Заметим лишь, что при существующих в гастроэнтерологии тенденциях к количественному анализу непрерывное и полное извлечение содержимого в большинстве случаев является одним из важных условий высокого методического уровня исследований.

Исследование нестимулируемой секреции

Исследование проводится без каких бы то ни было раздражителей и по возможности с устранением факторов, стимулирующих секрецию (вид, запах пищи и т. д.). За день до анализа необходимо исключить из диеты пищу, обладающую сильным сокогонным действием. Наиболее адекватным для исследования нести-

мулируемой секреции, по-видимому, является изучение секреторной функции желудка в ночное время.

Секреторная деятельность желудочных желез в ночное время подробно исследована Ф. И. Комаровым (1953). Автором установлено, что в среднем напряжение секреции желудка в ночное время равно 40 мл/час. При этом имеющиеся изменения в скорости секреции носят закономерный характер и зависят главным образом от смены бодрствования и сна. На основании собственных наблюдений и литературных данных Комаров пришел к выводу о необходимости строгого разграничения понятий «ночная» секреция и секреция во время сна в ночное время. Вопрос этот чрезвычайно интересен и нуждается в подробном изучении с точки зрения разработки рациональных методов исследования «ночной» секреции.

Схема исследования «ночной» секреции по Бокусу (Bockus, 1963). В день исследования больной получает легкую жидкую пищу, а после 17 часов 30 мин. ни пища, ни питье не даются. В 20 часов через нос вводится тонкий зонд, конец которого должен находиться в антральной области желудка (рентгеноскопический контроль). Желудок полностью опорожняется. С 20 часов 30 мин. до 8 часов 30 мин. следующего утра собирают часовые порции желудочного содержимого. Не следует давать подлежащим исследованию лицам никаких антиспазматических, секреторно-депрессивных или седативных средств. Анализ результатов, полученных Левиным (Levin, 1949) при исследовании секреции желудка вышеописанным методом, показал, что в среднем у здоровых людей напряженность секреции равна 48 мл/час. Ценность этого метода снижается длительностью исследования и неудобным временем его проведения.

Более распространенным для исследования нестимулируемой секреции желудочных желез является изучение базальной секреции.

Схема исследования базальной секреции по Бокусу (Bockus, 1963). Больной около 14 часов не получает пищи (за день до исследования следует прекратить введение медикаментов). Утром вводят тонкий зонд, конец которого должен располагаться в антральной области желудка (рентгеноскопический контроль). Извлечение содержимого из желудка производится при отрицательном давлении, создаваемом водоструйным насосом. Полностью извлеченное тощаковое содержимое помещают в сосуд с надписью «натощак». Откачиваемая затем 30-минутная порция не учитывается, чтобы исключить возможное влияние зондирования. После этого в течение 1 часа откачиваются четыре 15-минутные порции (возможно и более длительное исследование, в течение 4 часов). Подсчитываются концентрация и количество кислоты и пепсина в желудочном содержимом, получаемом в течение 1 часа. При этом в среднем напряженность секреции у здоровых мужчин равна 79.4±2.3 мл/час, у женщин

65.2±2.8 мл/час, выделение свободной соляной кислоты — 25.8±1.8 и 20.5±3.0 мэкв./л у мужчин и женщин соответственно.

При проведении повторных исследований Левин и др. (Levin a. oth., 1951) обнаружили, что показатели одночасовой базальной секреции более воспроизводимы, чем секреторная реакция желудка в ответ на стандартный гистаминовый тест. Аналогичного рода данные привели к тому, что многие клиницисты предпочитают исследование базальной секреции, а не реакцию на пробный завтрак или какой-либо стимулятор желудочной секреции.

Следует, однако, иметь в виду, что поскольку исследование базальной секреции начинается утром и продолжается довольно долго, совпадая во времени с обычным утренним приемом пищи, определенная роль в формировании базальной секреции наряду с исходным состоянием желудочных желез, по всей вероятности, принадлежит условнорефлекторному раздражению секреторного аппарата желудка. Это предположение находит ряд подтверждений. Действительно, как показали пересчет и сопоставление данных, представленных Бокусом (Bockus, 1963), количество HCl, выделенное здоровыми людьми в течение 1 часа, утром (базальная секреция) значительно выше, чем ночью (ночная секреция), а именно: 2.16 и 1.40 мэкв./час соответственно. Таким образом, по-видимому, нельзя считать, что мы исследуем базальную секрецию в полном смысле слова. Вместе с тем этот метод исследования весьма ценен, особенно в случаях высокого исходного уровня секреции. При использовании его кажется целесообразным ограничить время откачивания желудочного содержимого до 2 часов, с определением количества отделяемого секрета и его состава в 15-минутных порциях.

В заключение хотелось бы отметить важное значение сопоставления показателей базальной секреции и секреции на высоте пищеварения. У здорового человека показатели секреции в желудочном содержимом, полученном натощак, значительно ниже, чем после введения стимуляторов секреции. В патологических условиях возможно сближение показателей секреции до и после введения пробного раздражителя либо за счет значительного повышения показателей базальной секреции, либо за счет снижения (по сравнению с нормой) показателей после действия стимулятора секреции. Увеличение расхождения между показателями секреции до и после введения пробного раздражителя за счет повышения показателей стимулируемой секреции довольно часто встречается у вполне здоровых людей.

Исследование стимулируемой секреции

Необходимость стандартизации является насущной проблемой в отношении стимуляторов секреции в такой же мере, как и в отношении методов извлечения содержимого. Однако уменьшение количества используемых стимуляторов иногда встречает серьезные

возражения. Установлено, например, что у одного и того же субъекта соляная кислота на одни раздражители не выделяется, тогда как на другие выделяется значительное количество ее.

Известно, что ответ различных систем на раздражение в большой степени зависит от их реактивности в момент изучения. Эта закономерность справедлива и в отношении секреторного аппарата желудка. При выборе стимулятора секреции следует руководствоваться следующими соображениями: во-первых, реактивностью секреторного аппарата желудка и, во-вторых, тем, насколько интенсивную секрецию вызывает тот или иной раздражитель. Если возбудимость желудка в межпищеварительном периоде высока, нужно использовать стимулятор, вызывающий относительно менее интенсивную секрецию, и наоборот.

Основным источником информации для клинициста, приступающего к обследованию, является анамнез. Так, известно, что у больных язвенной болезнью, особенно с локализацией язвы в двенадцатиперстной кишке, железы желудка в межпищеварительном периоде находятся в возбужденном состоянии, т. е. их реактивность высока. Это же относится к синдрому ацидизма, симптомы которого (непереносимость мучного, сладкого, частые изжоги, облегчение после приема щелочей) также часто бывают обусловлены высоким исходным уровнем секреции желудочных желез. Некоторые заболевания, например эпидемический гепатит, хронические холециститы и др., рефлекторно приводят к увеличению исходного уровня секреции желудка, тогда как другие — панкреатиты, хронические колиты — эндогенно ведут к торможению деятельности желудочных желез в межпищеварительный период. Руководствуясь соображениями о предполагаемой реактивности аппарата желудочной секреции, клиницист может в каждом конкретном случае выбрать наиболее соответствующий стимулятор. Ниже описываются способы употребления наиболее важных стимуляторов желудочной секреции совместно с теми методами извлечения содержимого, которые чаще используются или приводятся в авторитетных руководствах.

Существующие стимуляторы желудочной секреции по способу введения можно разделить на энтеральные и парэнтеральные. К энтеральным относятся естественные пищевые раздражители (хлебный завтрак, мясной бульон, капустный отвар и мн. др.), а также кофеиновый, алкогольный и другие завтраки. Парэнтерально вводятся такие стимуляторы желудочной секреции, как гистамин, инсулин, спирт, гастрин.

Пищевые пробные завтраки наиболее физиологичны. Основным их недостатком является невозможность точной стандартизации.[2] Между тем даже небольшие отклонения в составе пищи могут

---

[2] Капустный отвар перед употреблением обычно титруют (0.1 н. NaOH, индикатор фенолфталеин), доводя pH до стандартных значений. Таким обра-

оказать существенное влияние на их стимулирующие свойства. Другие энтеральные стимуляторы желудочной секреции (спирт, кофеин) обычно вводятся в стандартной дозировке. Следует учитывать, что реакция желудочных желез в ответ на спиртовый пробный завтрак в большой степени зависит от привычки к употреблению алкоголя у исследуемого субъекта. Общим недостатком у алкогольного и кофеинового стимуляторов является действие этих веществ на центральную нервную систему. Изменение функций последней может сказаться на результатах, получаемых при исследовании секреции желудка. Другим существенным недостатком всех энтеральных раздражителей является примешивание пробного завтрака к желудочному секрету, что затрудняет исследование.

В свое время были предприняты попытки исследовать желудочную секрецию в ответ на натуральные условные раздражители (вид, запах пищи), а также с помощью «мнимого кормления». Однако в клинике указанные способы стимуляции желудочной секреции на нашли распространения. Изучение чистого секрета желудочных желез (при использовании энтеральных стимуляторов) возможно только за счет так называемой «последовательной» секреции, получаемой через определенный промежуток времени после откачивания всего содержимого желудка вместе с пробным завтраком.

Использование парэнтеральных раздражителей (гистамин, инсулин, спирт) дает возможность получать чистый желудочный секрет в значительных количествах. Большим преимуществом подобного рода стимуляторов является также их точная стандартизация. Однако введение парэнтеральных раздражителей часто сопровождается побочными явлениями (сосудистыми реакциями при введении гистамина и гипогликемическим синдромом при использовании инсулина).

Итак, реакция желудочных желез на пробный раздражитель зависит от исходного функционального состояния секреторного аппарата желудка и от свойств применяемого раздражителя. Приводимые ниже стимуляторы секреции (энтеральные и парэнтеральные) расположены в зависимости от интенсивности их воздействия на секреторный аппарат желудка в порядке возрастания. При этом, однако, следует иметь в виду определенную условность такого распределения, поскольку стимуляторы желудочной секреции отличаются друг от друга как по интенсивности сокоотделения, так и по составу секрета. В зависимости от механизмов стимуляции секреции увеличение количества секрета происходит за счет разных компонентов. Так, например, и гистамин, и инсулин вызывают интенсивное сокоотделение. Однако в случае гистамина имеет место прямое возбуждение главным образом обкладоч-

---

зом, в отношении этого пищевого раздражителя существует возможность точной дозировки его хотя бы по одному из важных для стимуляции секреции свойств. Такая же возможность имеется и в отношении мясного бульона.

ных клеток желудка, тогда как «инсулиновая» секреция, по-видимому, обусловлена возбуждением центров блуждающих нервов. В первом случае в составе секрета больше соляной кислоты, чем во втором; в отношении пепсина соотношения обратные.

К о ф е и н. Кофеин стимулирует желудочную секрецию, близкую по составу к гистаминовой, т. е. в основном он вызывает отделение париетального компонента желудочного секрета. На железы желудка этот раздражитель действует, по-видимому, периферически (Roth a. Jry, 1945). Приводим способ определения желудочной секреции с использованием кофеинового завтрака по Гульзову (Gülzow, 1961). Натощак каждые 10 мин. извлекается все содержимое желудка в течение 30 мин. Затем дается кофеиновый завтрак (0.2 г coffeini puri в 300 мл дистиллированной воды), в который добавляют 2 капли 2%-го раствора метиленовой сини. Каждые 10 мин. откачивают 10 мл содержимого до исчезновения метки. Затем в течение 1 часа каждые 10 мин. извлекают все содержимое желудка. Подсчитывают количество секрета, полученного натощак, и последовательную секрецию. В каждой порции определяют содержание свободной HCl и общую кислотность. Рис. 1 иллюстрирует нормальные показатели, получаемые при исследовании секреции желудка с помощью кофеина. Как видно из рисунка, к исходному уровню концентрация кислоты приходит через 1 час после эвакуации пробного завтрака (или более чем через 2 часа после введения кофеина). По данным Бокуса (Bockus, 1963), это происходит значительно раньше, а именно через 1—1.5 часа после введения стимулятора.

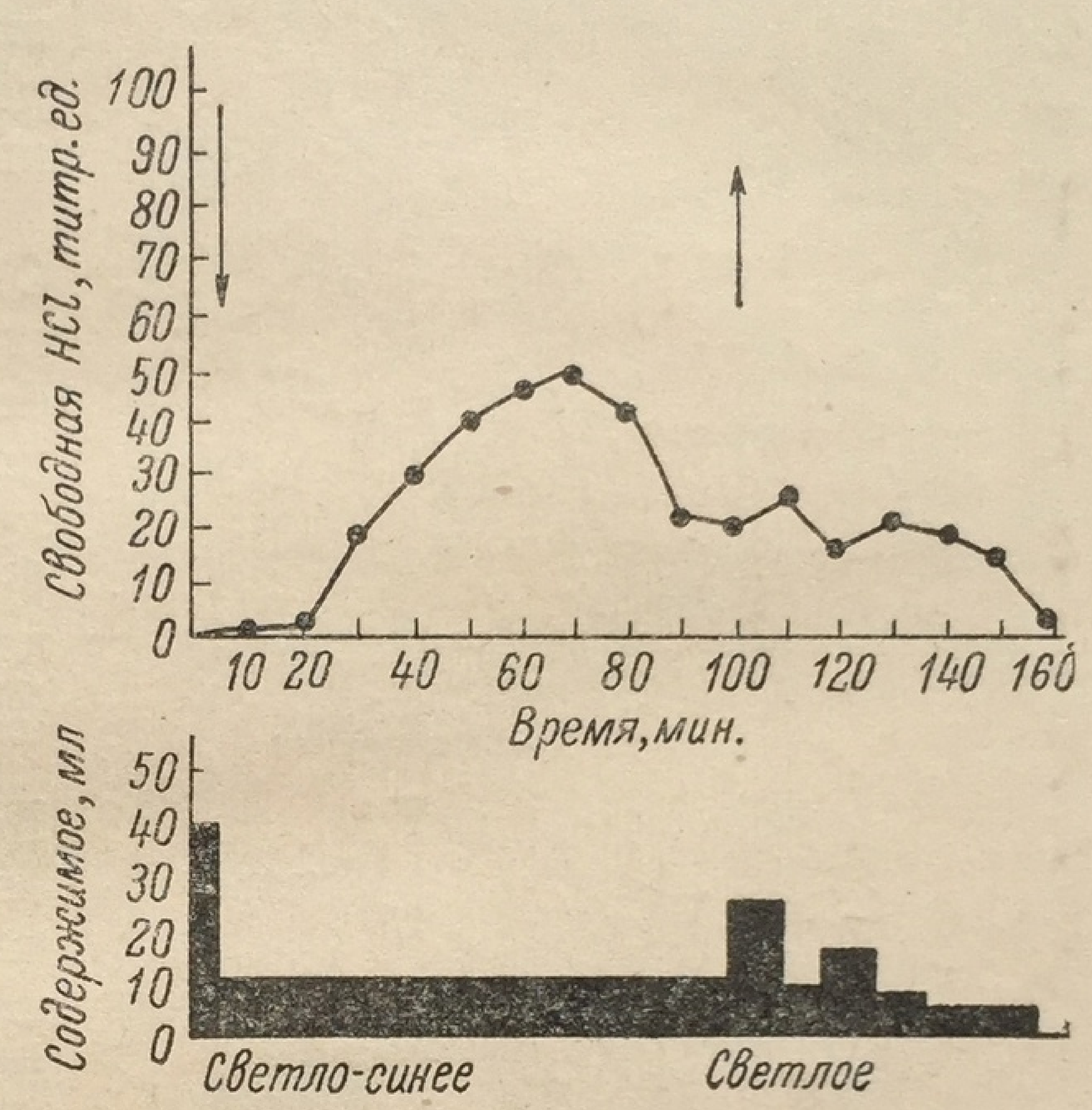


Рис. 1. Нормальные показатели при исследовании желудочной секреции после введения в качестве раздражителя раствора кофеина. (По: Gülzow, 1961, рис. 18а, стр. 389).

Стрелка вниз — момент введения раздражителя, *стрелка вверх* — момент эвакуации желудочного содержимого.

С п и р т. Близким к кофеиновому по реакции желудочных желез является спиртовый завтрак по Эрману (300 мл 5%-го раствора спирта). Желудочный сок в ответ на введение спирта напоминает «гистаминовый», однако концентрация пепсина при алкогольном раздражении выше.

Алкоголь осуществляет свое действие рефлекторно через блуждающие нервы и местно действуя на железы желудка. Секреторный эффект от алкоголя частично тормозится атропином. Исследование желудочной секреции с помощью спиртового пробного завтрака можно проводить таким же способом, как с кофеином (Gülzow, 1961). Некоторые исследователи вводят в желудок 50 мл 7%-го спирта с извлечением содержимого через каждые 30 мин. в течение 2 часов (Bockus, 1963).

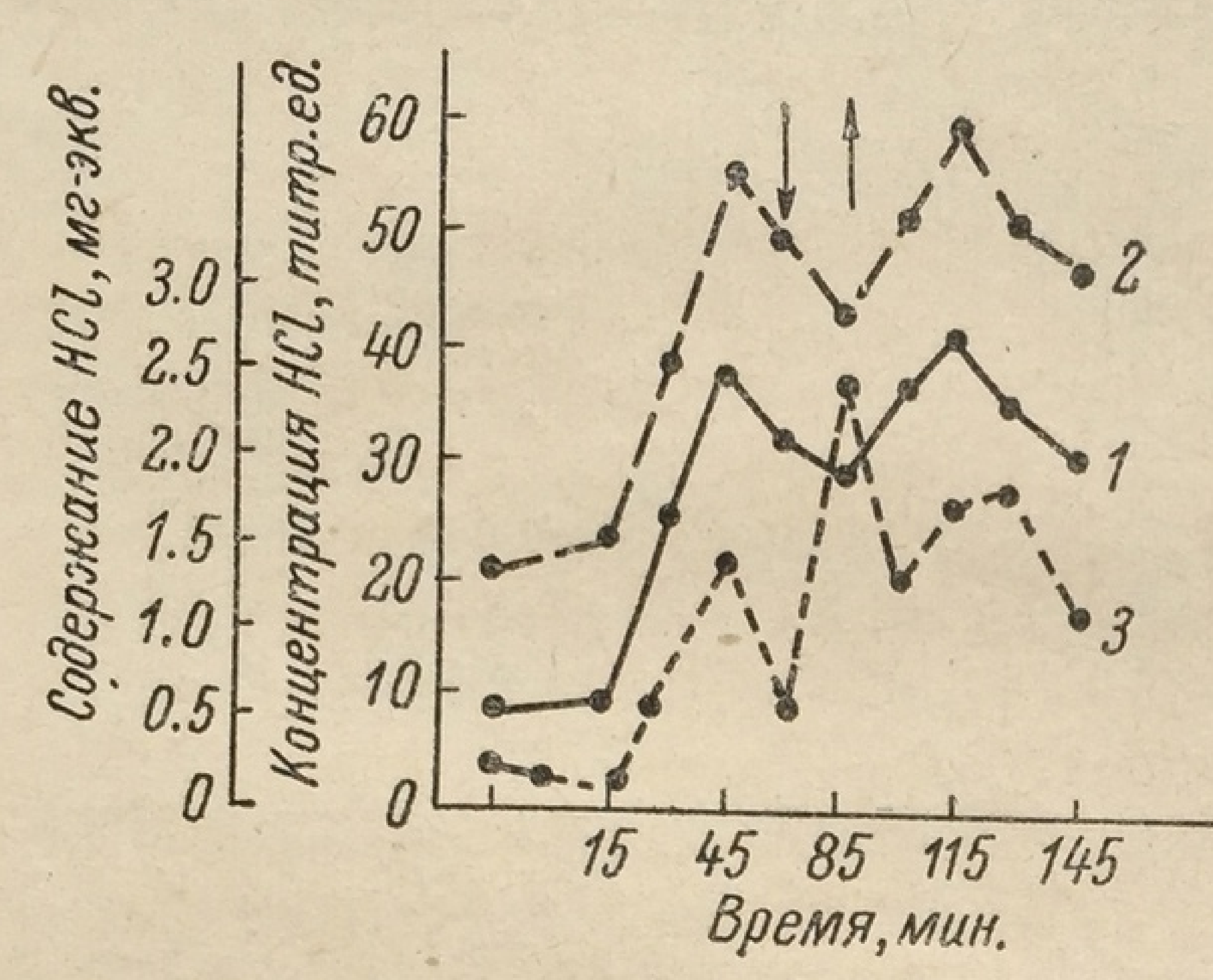




Рис. 2. Нормальные показатели при исследовании желудочной секреции после введения в качестве пробного раздражителя капустного отвара.

1 — свободная кислота; *2* — общая кислотность; *3* — свободная HCl (мг-экв.). Значение стрелок то же, что на рис. 1.

Мясной бульон. Обычно 400 г тощего мяса кипятят в 1 л воды пока не останется всего 400 мл жидкости. В течение 2 часов в желудок вводят 2 раза по 200 мл бульона с последующим извлечением содержимого (Предтеченский, 1960, и др.).

Капустный отвар. Действует примерно одинаково на выделение кислоты и пепсина. Метод исследования желудочной секреции с помощью капустного отвара разработан Н. И. Лепорским (1928). В настоящее время широко используется его модификация, описанная выше и рекомендуемая в качестве стандартизированного метода извлечения желудочного содержимого. Напомним, что обычно применяется отвар из сухой капусты титра 18—20 по 0.1 н. NaOH в количестве 200 мл. Как видно из рис. 2, при использовании этого метода количественные показатели секреции у здоровых по сравнению с нормами, указанными Н. И. Лепорским, существенно меняются. Количество содержимого, откачиваемое через 25 мин. после введения капустного отвара — «остаток», — увеличивается с 70 до 125 мл, а количество секрета в «часовом напряжении» (сумма четырех последних порций) — с 70 до 130 мл.

Гистамин (β-imidazolylethylamin — продукт декарбоксилирования гистидина). Обычно вводят основной гистамин в дозе 0.01 мг/кг веса обследуемого. При использовании других

препаратов гистамина вводимую дозу необходимо пересчитывать на основной гистамин. Так, 0.01 мг основного гистамина эквивалентны следующие количества других его соединений: гистаминовый кислый фосфат или дифосфат — 0.0275 мг/кг, гистаминовый фосфат — 0.025 мг/кг, гистаминовый дигидрохлорид — 0.0166 мг/кг.

Исследование секреторной функции желудка с использованием гистамина (Hafter, 1962) проводится следующим образом. Натощак откачивается все содержимое желудка 2 раза через 15-минутные промежутки времени. Затем вводится стандартная доза гистамина (0.01 мг основного гистамина на 1 кг веса), после чего собираются 15-минутные порции содержимого в течение 2 часов. На рис. 3 отражены данные, характеризующие секрецию в ответ на гистамин у здорового человека.

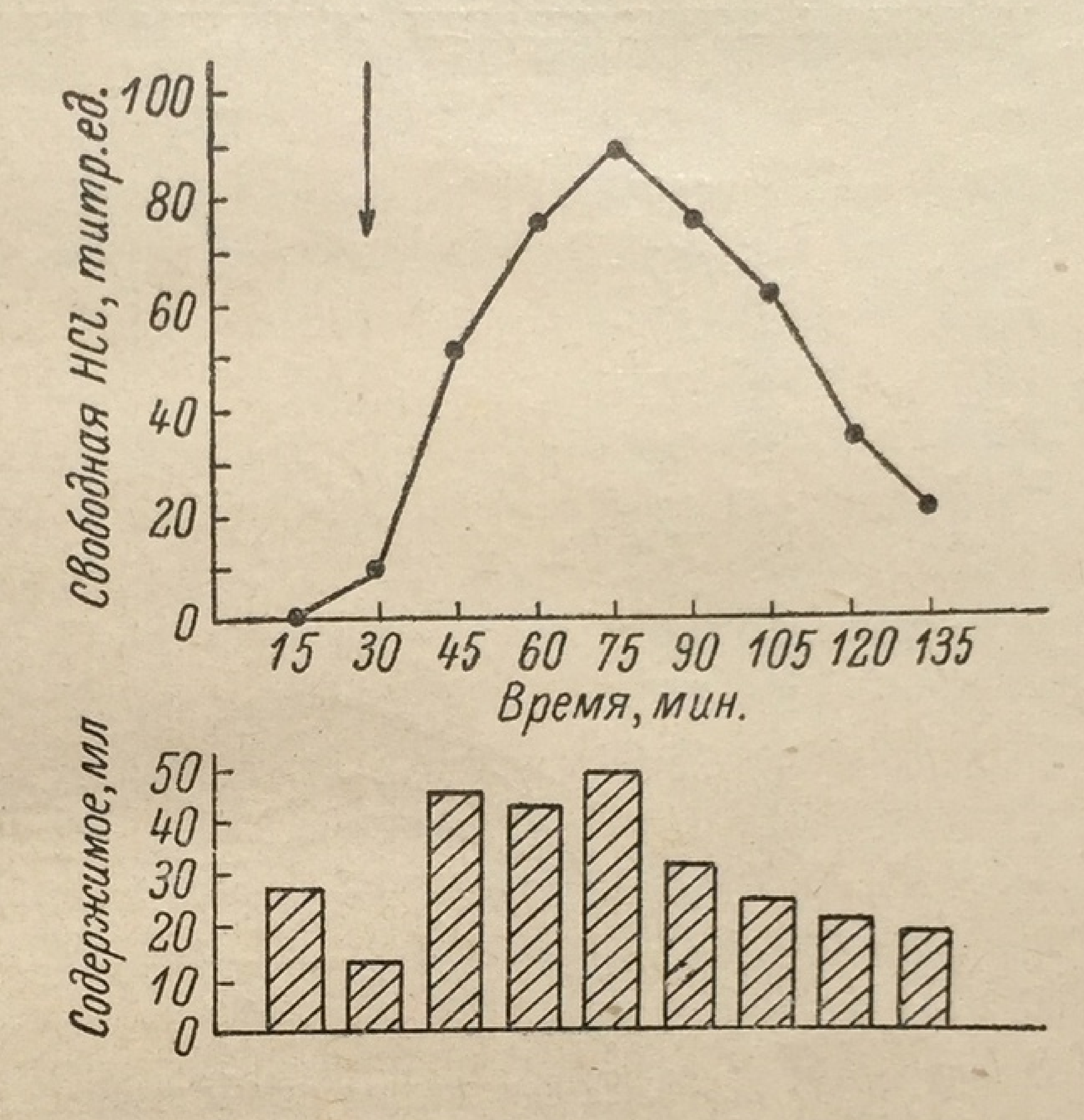


Рис. 3. Нормальные показатели при исследовании желудочной секреции после введения в качестве пробного раздражителя гистамина. (По: Hafter, 1962, рис. 11, стр. 18.)

Стрелка — момент введения раздражителя.

Гистамин стимулирует главным образом те клеточные элементы, которые выделяют соляную кислоту, и, возможно, некоторые другие неорганические компоненты (Бабкин, 1960), являясь, по-видимому, «местным хемостимулятором париетальных клеток» слизистой желудка (Code, 1956).

Кэй (Kay, 1953) нашел, что увеличение дозы гистамина до 0.04 мг/кг веса (гистаминовый кислый фосфат) вызывает пропорциональное увеличение содержания кислоты в желудочном соке. Дальнейшее увеличение дозы не вызывает интенсификации кислотообразования в желудке. Был сделан вывод, что доза 0.04 мг/кг веса гистаминовокислого фосфата вызывает максимальную реакцию желудочных желез, после чего, несмотря на увеличение дозы гистамина, концентрация HCl остается постоянной (Adams a. oth., 1954; Marks a. oth., 1958). Следует учитывать, что использованию увеличенной дозы гистамина должно предшествовать введение антигистаминовых препаратов.

Техника проведения максимальной гистаминовой пробы следующая (Jablonska u. and., 1967). В течение 1 часа откачивается содержимое желудка через 15-минутные промежутки времени. Затем внутримышечно вводится 100 мг mepyramine hydrogen

maleate (Neo-Antergan).[3] Желудочный сок, собираемый в течение последующих 30 мин., не учитывается. Вводится подкожно 0.04 мг на 1 кг веса тела гистаминовокислого фосфата или эквивалентное количество другого соединения гистамина. Измеряется количество и другие показатели секреции за 30-минутный период — от 15 и до 45 мин. после введения гистамина.

Реакция на увеличенную дозу гистамина (максимальная проба с гистамином по Кэй) может быть использована для учета максимальной возможности желудка выделять кислоту.

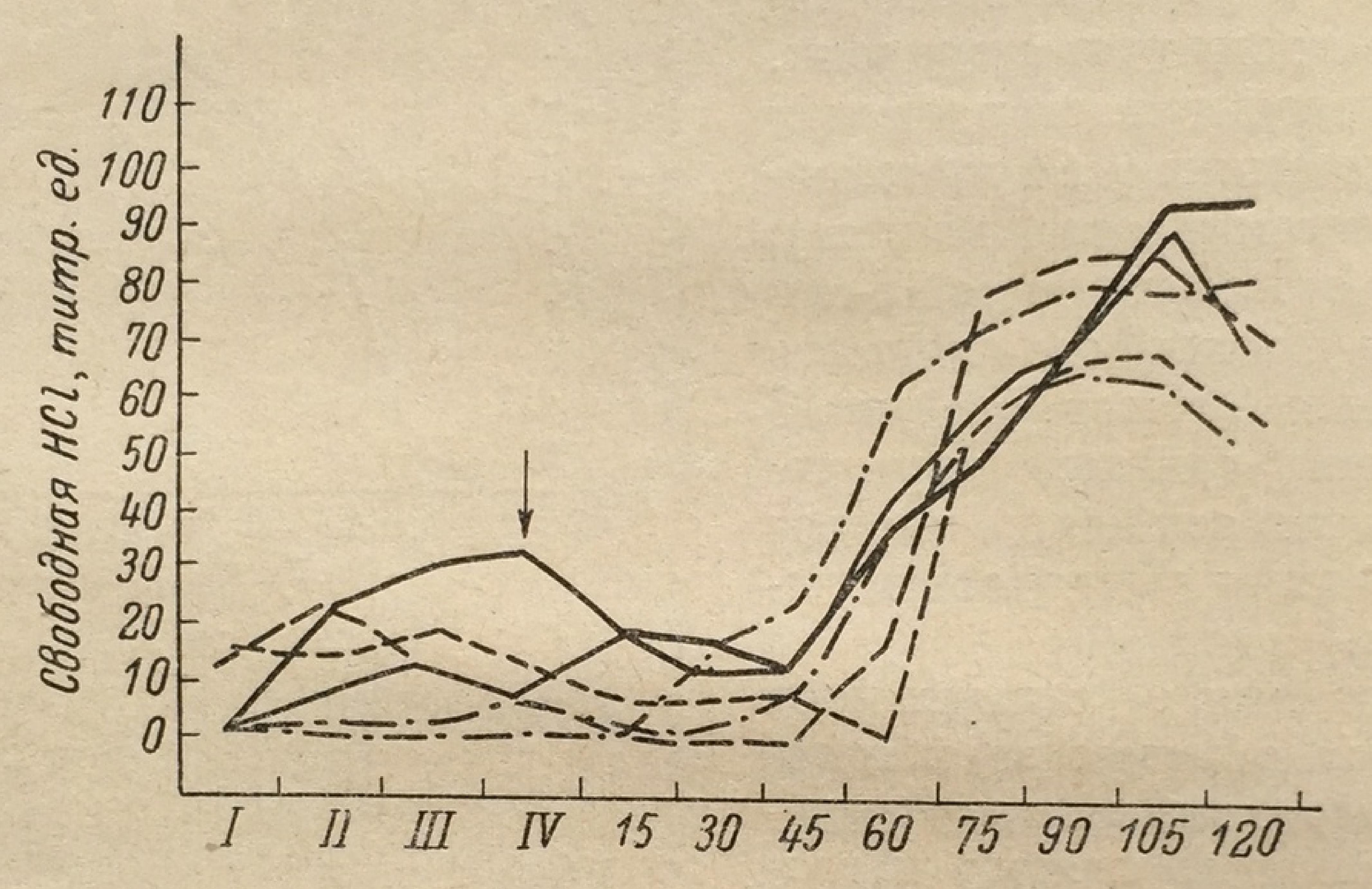


Рис. 4. Содержание свободной соляной кислоты в желудочном секрете при исследовании его после введения в качестве пробного раздражителя 12 ед. инсулина. (По: Гельман, 1954, рис. 1, стр. 67).

По оси абсцисс: *римские цифры* — тощаковые порции желудочного сока, *арабские* — время в минутах после введения инсулина. Значение стрелки то же, что на рис. 3.

Найдена почти линейная зависимость между выделением HCl и массой париетальных клеток (23 мэкв./час на биллион париетальных клеток). По данным Бэйрона (Baron, 1965), при проведении максимальной пробы следует считать нормальным выделение HCl в количестве 1—20 мэкв./час (содержание кислоты в базальном секрете колебалось в пределах 0—2—5 мэкв./час). Обращают на себя внимание широкие колебания показателей секреции после введения гистамина, что снижает ценность этой пробы.

Используемая доза гистамина является столь сильным раздражителем, что исходное функциональное состояние желудочных желез не отражается на ответной реакции. Результаты максимальной пробы с гистамином скорее зависят от анатомического состояния слизистой оболочки желудка.

[3] В качестве антигистаминного препарата может быть использован супрастин.

Имеется аналог гистамина, обладающий уникальными раздражающими свойствами без побочного действия гистамина на сердечно-сосудистую систему. Речь идет о гисталоге (3β-aminoethyl-pyrazole). Гисталог употребляется в дозе 25—50 мг без антигистаминовых препаратов. Доза гисталога в 50 мг вызывает большее выделение кислоты, чем 0.01 мг на 1 кг веса тела гистаминового дифосфата. 100 мг гисталога вызывают побочные явления, подобные тем, которые наблюдаются при введении гистамина.

Инсулин. Обычно инсулин вводят подкожно в дозе 12 ед. (Гельман, 1954). При этом наблюдается выраженный секреторный эффект и незначительные проявления гипогликемии (рис. 4). Повышение кислотности наступает, как правило, через 60—75 мин. и достигает максимума через 90—120 мин. Дозу 10—12 ед. некоторые исследователи рекомендуют также использовать для внутривенного введения (Bockus, 1963; Ташев, 1964, и др.). По мнению Я. Рийва (1957), дозу инсулина при внутривенном введении не следует увеличивать свыше 4 ед., так как это может привести к неприятным побочным явлениям. Действие инсулина при внутривенном введении (речь идет о дозе в 4 ед.) проявляется быстро, и представление о секреторной функции желудочных желез можно получить через 1.5—2 часа, тогда как при подкожном введении — только через 3—4 часа. При исследовании желудочной секреции с помощью инсулина (особенно внутривенно) всегда следует иметь стерильный раствор глюкозы на случай возникновения гипогликемической реакции.

Процедура исследования желудочной секреции с помощью инсулина заключается в следующем (Bockus, 1963). Больной голодает около 14 часов. Утром в желудок вводят зонд (рентгеноскопический контроль). Извлекают желудочное содержимое с использованием водоструйного насоса, создающего отрицательное давление 30 мм вод. ст. Желудок опустошают полностью, и содержимое помещают в отдельный сосуд, затем в течение 1 часа откачивают четыре 15-минутные порции желудочного содержимого (базальная секреция), после чего вводят инсулин из расчета 0.15—0.20 ед./кг веса внутривенно. В течение 2 часов собирают 15-минутные порции желудочного сока, измеряют объем каждой порции, отмечают наличие слизи, желчи, крови, количество свободной и общей кислоты, протеолитическую активность. При этом определяют обычно также количество глюкозы в крови натощак и через 0.5, 1, 1.5 и 2 часа после введения инсулина.

Существует точка зрения, в соответствии с которой инсулин стимулирует желудочную секрецию посредством усиливающейся под его влиянием выработке гастрина (Glass a. Wolf, 1950, и др.). Однако наиболее распространенным является представление о чисто «нервном» характере секреции. Усиление секреторной деятельности при введении инсулина рассматривается как результат возбуждения центров блуждающих нервов, по-видимому, вследствие возни-

кающей в организме гипогликемии. Отмечается отчетливый параллелизм между степенью гипогликемии и секреторной реакцией желудочных желез.

При исследовании с инсулином нужно иметь в виду следующее. В случае, если блуждающие нервы находятся в возбужденном исходном состоянии, инсулин тормозит секрецию, действуя противоположным образом, когда блуждающие нервы находятся в исходном состоянии покоя. Некоторые исследователи склонны рассматривать это явление как парадоксальную реакцию. Действительно, Рийв (1957) у многих больных, особенно с язвой желудка и двенадцатиперстной кишки, при введении больших доз инсулина — 8 ед. внутривенно — в острой стадии заболевания отметил торможение секреции желудка, тогда как меньшая доза — 2 ед. — вызывала значительную реакцию желудочных желез.

Стимуляция желудочных желез инсулином под названием «проба Холландера» иногда используется для исследования влияния раздражения вагусов на секреторную реакцию, а также для проверки полноценности хирургической ваготомии (Palmer, 1963). Положительной реакцией, свидетельствующей о функциональной эффективности секреторных нервов желудка или о неполной ваготомии, является следующая: свободная соляная кислота должна быть 20 мэкв./л или больше; если контрольные цифры были отрицательными, то не меньше 10 мэкв./л.

Состав желудочного сока, выделяющегося при введении инсулина, подобен тому, который выделяется при раздражении парасимпатических нервов (Welin a. Frisk, 1936). Кислотность желудочного сока немного ниже гистаминовой, а содержание пепсина, слизи и хлоридов выше. Атропин или двусторонняя ваготомия исключают секрецию на инсулин.

АНАЛИЗ КОМПОНЕНТОВ ЖЕЛУДОЧНОГО СЕКРЕТА

Кислотность и pH желудочного содержимого

Соляная кислота, содержащаяся в желудке, является одним из активных участников пищеварительного гидролиза, и в этом заключается ее основная роль с физиологической точки зрения. Функции соляной кислоты весьма многообразны. Она обеспечивает оптимум pH для ферментов желудка, участвует в гормональном возбуждении деятельности главных желез желудка и экзокринной секреции панкреатической железы, способствует набуханию белковых коллоидов пищи, тем самым подготавливая их к гидролитическому расщеплению, является одним из регуляторов моторики желудка и тонкой кишки, оказывает бактерицидное и бактериостатическое действие и т. д. В этой связи понятно, почему, несмотря на значительную лабильность показателей кислотности желудочного содержимого даже в нормальном орга-

низме, исследованию кислотности при патологии желудочно-кишечного тракта по-прежнему уделяется большое внимание.

Обычно в извлеченном содержимом желудка определяют свободную и связанную соляную кислоту (иногда дефицит HCl), общую кислотность и концентрацию свободных водородных ионов (pH).

Под свободной соляной кислотой подразумевается количество диссоциированных H^+- и Cl^--ионов (актуальная кислотность), а под связанной кислотой — количество недиссоциированных молекул соляной кислоты, связанных с белками и органическими основаниями (потенциальная кислотность). Общая кислотность равна сумме свободной и связанной соляной кислоты, несколько превышая ее за счет кислых фосфатов, сульфатов и органических кислот (пировиноградной, молочной, креатин-фосфорной, аденозин-фосфорной), иногда имеющихся в желудке в незначительном количестве.

Так называемая свободная соляная кислота может быть выявлена посредством качественной реакции с реактивом Грюнцберга (раствор 2 г флюороглицина и 1 г ванилина в 30 мл 95°-го спирта) (Джорджеску и Пэунеску, 1963) или с парадиметиламидоазобензолом, а также бумажкой конгорот и другими индикаторами.

Определение кислотности методом титрования. Количественное определение кислотности в клинике обычно производится классическим методом титрования желудочного содержимого 0.1 н. раствором NaOH в присутствии индикаторов, изменяющих окраску среды при определенных значениях pH, возникающих в момент нейтрализации исследуемых кислот. Для индикации конечной точки титрования свободной соляной кислоты используется 0.5%-й спиртовый раствор парадиметиламидоазобензола или 0.5%-й спиртовой раствор метилоранжа (реактив Топфера), которые в количестве 2—4 капель добавляются к 5—10 мл отфильтрованного желудочного содержимого (в зоне pH 2.4—4.0 ярко-красное окрашивание переходит в желто-красное). По затраченному на титрование объему 0.1 н. NaOH судят о количестве свободной HCl. При продолжении титрования в присутствии 2 капель 1%-го спиртового раствора фенолфталеина (зона перехода окраски при pH 8.2—10.0) в момент связывания всех кислых валентностей появляется розовое окрашивание. Количество 0.1 н. NaOH, затраченное на все исследование, характеризует общую кислотность желудочного содержимого. Связанную кислоту определяют титрованием желудочного содержимого в присутствии 4—5 капель 1%-го водного раствора красного ализарина (ализаринсульфоновокислый натрий), зона перехода окраски которого от желтого к фиолетовому колеблется в пределах pH 5.0—6.8. Разница между показателями общей кислотности и данными, полученными при титровании с ализарином, характеризует связанную соляную кислоту, Обычно определение

свободной и общей кислотности производится в одной порции желудочного содержимого, равной 5—10 мл; кислотность характеризуется количеством миллилитров 0.1 н. NaOH, затраченным на нейтрализацию кислоты в 100 мл желудочного содержимого, и выражается в условных титрационных единицах. Расчет производится по формуле

$$X = \frac{100 \cdot A}{B},$$

где X — кислотность в титрационных единицах; A — количество (в мл) 0.1 н. NaOH, израсходованной на титрование; B — количество (в мл) содержимого, взятое для данного определения.

Принято считать нормальными показатели свободной соляной кислоты в пределах 20—40, общей кислотности — 40—60 титрационных единиц.[4] У здоровых людей кислотность желудочного содержимого день ото дня колеблется в пределах 25% (Bockus a. oth., 1931). Эти нормальные колебания существуют за счет различных объемов выделяемого обкладочными клетками и щелочного компонентов секрета, за счет разведения желудочного секрета слюной и заброшенной желчью, небольших различий в скорости опорожнения желудка, положения конца зонда и т. д. У мужчин уровень кислотности желудка выше и имеет тенденцию к уменьшению в возрасте от 40 до 50 лет, у женщин несколько ниже и с возрастом существенно не изменяется (рис. 5).

При полном отсутствии свободной соляной кислоты иногда определяют так называемый дефицит соляной кислоты. В этом случае к желудочному содержимому в присутствии парадиметиламидоазобензола добавляют 0.1 н. HCl до появления розового окрашивания. Потребовавшееся для этого количество (в мл) HCl в пересчете на 100 мл содержимого соответствует дефициту соляной кислоты.

Описанный выше метод исследования кислотности желудочного содержимого широко распространен и детально описывается в ряде отечественных и зарубежных руководств (Предтеченский, 1960; Джорджеску и Пэунеску, 1963; Шилов и Казбинцев, 1963; Туголуков, 1965; Гиттер и Хейльмейер, 1966, и мн. др.). Имеются, однако, довольно многочисленные указания на неточность метода титрования с использованием красящих индикаторов. Так, по данным Ровелстада (Rovelstad, 1963), при определении свободной соляной кислоты с реактивом Топфера ошибка достигает 30 мэкв./л, а общей кислотности с фенолфталеином — 12 мэкв./л. Причина расхождений заключается, по всей вероятности, в том, что связанная соляная кислота проявляет резко выраженную тен-

[4] После завтрака Эвальда—Боаса.

денцию к гидролитическому разложению, чему способствует именно титрование. Во время титрования свободные H^+-ионы нейтрализуются едким натрием, но одновременно освобождаются новые, до тех пор связанные ионы водорода, которые также нейтрализуются щелочью. Не рекомендуется разводить пробу желудочного содержимого водой, так как это значительно повышает pH, давая ложно высокий процент ахлоргидрии при определении свободной HCl.

В последнее время делаются попытки перейти от титрования к более точным колориметрическим методам определения кислотности желудочного содержимого. Ниже приводится краткое описание одного из таких методов.

Колориметрический метод определения кислотности (Hankiewiez, 1965). К 1 мл отфильтрованного желудочного содержимого добавляется 3 мл 0.01%-го раствора 3-фенил-азо-2,6-диаминопиридина в 10%-м растворе глюкозы (для стабилизации раствора). В присутствии свободной соляной кислоты желтая окраска раствора сменяется оранжевой, интенсивность которой пропорциональна концентрации кислоты. Содержание соляной кислоты, определяемое колориметрически, выражается в процентах или в миллиграмм-эквивалентах (1% = 0.287 мэкв./л; 1 мэкв./л = 3.6%). Концентрация кислоты выше 0.3% (0.8 мэкв./л) считается повышенной. Ошибка метода ±3.4—4.8%. Минимально определяемая концентрация соляной кислоты — 0.001%.

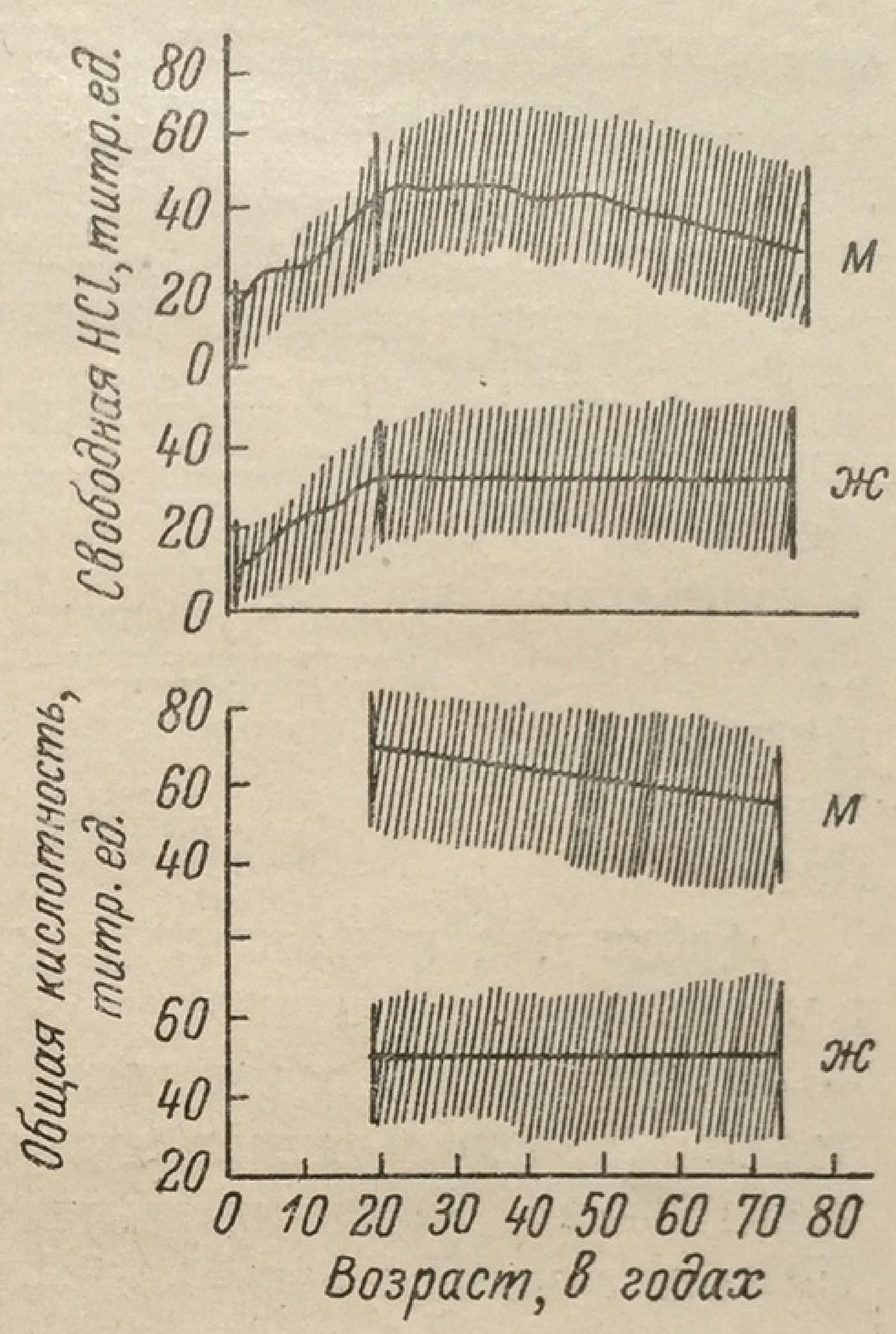


Рис. 5. Уровни нормальной кислотности желудочного содержимого у лиц мужского (*м*) и женского (*ж*) пола различного возраста. (По: Bockus, 1963, рис. 18—16, стр. 304).

Заштрихованные поля представляют собой область, в пределах которой лежит 80% показателей свободной и общей кислотности.

Способы выражения кислотности желудочного содержимого. Кислотность желудочного содержимого наряду с условными титрационными единицами выражают в миллиэквивалентах на литр (численные величины соответствуют титрационным единицам), в процентах (0.00365 умножают на цифровое значение кислотности), а также в миллиграммах или миллиграмм-эквивалентах.

В последние годы в гастроэнтерологии все более отчетливо проявляется тенденция к количественной характеристике секреторной функции желудка. Фракционное зондирование с непрерыв-

3 Заказ № 1392

ным извлечением желудочного содержимого дает возможность более полного учета объема секреции, и, таким образом, создает предпосылки для количественной оценки кислотообразующей функции в порциях желудочного содержимого. Определение количества кислоты в порциях желудочного содержимого, извлекаемого за небольшие промежутки времени (15 мин.), с последующим суммированием полученных данных позволяет характеризовать как максимальный подъем кислотности, так и (что особенно важно) абсолютное количество кислоты, выделяющееся за определенное время (обычно дебит-час кислоты). Выражение кислотности желудочного содержимого в абсолютных единицах (мг или мг-экв.) и подсчет дебит-часа, по мнению многих исследователей, дает более точное представление о кислотообразующей функции желудка, чем обычно применяемые относительные титрационные единицы или миллиэквиваленты на литр (Гольденберг и др., 1959; Лебедев, 1959; Lambling et al., 1960; Шилов и Лебедев, 1961; Коростовцев и др., 1966, и др.). Величина дебит-часа зависит от часового напряжения секреции и величины кислотности; вполне понятно, что при определении дебит-часа следует стремиться к наиболее полному извлечению желудочного содержимого.

Дебит-час выражается или в миллиграммах соляной кислоты в час или же в миллиграмм-эквивалентах в час (в последнем случае количество сока в миллилитрах умножают на показатель кислотности в титрационных единицах и делят на 1000). В норме дебит-час HCl в I фазу секреции желудка колеблется в пределах 40—150 мг, а во II фазу — 40—220 мг (Ташев, 1964). Для облегчения вычисления дебит-часа целесообразно пользоваться специально рассчитанными номограммами (Lambling et al., 1960; Коростовцев, 1963; Блинов, 1966, и др.).

Извлеченное желудочное содержимое представляет собой сумму секретов главных желез, антрально-пилорических желез и железистого поверхностного эпителия. Два последних, обладая нейтральной или слабощелочной реакцией, к кислотообразующей функции слизистой оболочки отношения не имеют. Однако избыток их секрета, увеличивая количество получаемого желудочного содержимого, ведет, даже при достаточно интенсивной деятельности обкладочных клеток, к занижению результатов исследования кислотности (в титр. ед.). Недостаточное выделение антрально-пилорического секрета и нейтрального секрета клеток поверхностного (ямочного) эпителия может быть причиной высоких показателей кислотности даже в случаях с умеренной атрофией слизистой оболочки и соответствующим уменьшением числа обкладочных клеток. При этом количество полученного желудочного содержимого будет небольшим. Сказанное иллюстрируется следующими двумя конкретными примерами, заимствованными из клинической практики (Ц. Г. Масевич):

Сопоставление кислотности желудочного содержимого и количества выделенной свободной соляной кислоты в час у двух больных

	I	II
Количество желудочного содержимого, мл	22	155
Кислотность, титр. ед.	90	20
Количество соляной кислоты, мг-экв./час	1.98	3.1

Как видно из приведенных данных, в первом случае по показателю в титрационных единицах кислотность желудочного содержимого (90) значительно повышена, во втором (20) — на нижней границе нормы. Понятно, однако, что эти данные получены благодаря существенному различию в количестве секрета (22 и 155 мл соответственно), и в действительности кислотообразующая функция во втором случае интенсивнее, чем в первом (3.1 и 1.98 мг-экв./час).

Метод парциального определения кислого и щелочного секретов желудка по Ламблингу (Lambling et al., 1953, 1955, 1960). В последнее десятилетие широко используется в клинической практике метод Ламблинга, основанный на теории изохлоргидрии Гейденгайна—Павлова—Холландера, согласно которой обкладочные клетки выделяют секрет с постоянной концентрацией HCl. Концентрация соляной кислоты, как утверждает Ламблинг, равна 143 мг-экв./л, концентрация щелочного секрета также постоянна и равна 40 мг-экв./л (на долю бикарбоната натрия и щелочной слизи приходится примерно поровну). Наблюдаемая вариабильность кислотности желудочного содержимого определяется смешением различных количеств секрета обкладочных клеток и отделяемого другими морфологическими структурами желудка щелочного секрета, обладающего определенной буферной способностью. Исходя из этих предпосылок и зная кислотность, можно вычислить количество (в мл) кислого и щелочного секретов в исследуемой порции желудочного содержимого по следующим формулам:

$$V_{щ} = V_{общ} \frac{143 - C}{183},$$

$$V_{к} = V_{общ} \frac{40 + C}{183},$$

где $V_{общ.}$ — общее количество (в мл) содержимого в исследуемой порции; C — концентрация свободной соляной кислоты; 143 — концентрация чистого кислого секрета; 40 — концентрация чистого щелочного секрета; 183 — сумма концентраций кислого и щелочного секретов.

Если известно, например, $V_{щ}$, то $V_{к}$ проще вычислить из уравнения $V_{к} = V_{общ} - V_{щ}$.

Истинный дебит соляной кислоты вычисляется по формуле

$$D \text{ (в мг-экв.)} = V_{к} \frac{143}{1000}.$$

Для облегчения расчета Ламблингом и др. (Lambling et al., 1960) предложена номограмма, с помощью которой легко можно определить процентное соотношение кислой и щелочной частей секрета в исследуемом объеме желудочного содержимого. С. Б. Коростовцев и др. (1966) считают, что проще и точнее для этого использовать таблицу с заранее рассчитанными соотношениями (в %) кислого и щелочного секретов при определенной кислотности.

Процентное соотношение кислого и щелочного секретов при различных значениях кислотности (или дефицита HCl)
(Коростовцев и др., 1966)

Кислотность (титр. ед.)	Секрет (%) кислый	Секрет (%) щелочной
132	93.0	7.0
128	91.0	9.0
124	89.0	11.0
120	87.0	13.0
116	85.0	15.0
112	83.0	17.0
108	80.0	20.0
104	78.0	22.0
100	76.0	24.0
96	74.0	26.0
92	72.0	28.0
88	70.0	30.0
84	68.0	32.0
80	66.0	34.0
76	64.0	36.0
72	62.0	38.0
68	60.0	40.0
64	57.0	43.0
60	55.0	45.0
56	53.0	47.0
52	50.0	50.0
48	47.0	53.0
44	45.0	55.0
40	43.0	57.0
36	41.0	59.0
32	39.0	61.0
28	36.0	64.0
24	34.0	66.0
20	32.0	68.0
16	30.0	70.0
12	28.0	72.0
8	26.0	74.0
4	22.0	78.0

Дефицит HCl (титр. ед.)	Секрет (%) кислый	Секрет (%) щелочной
4	19.0	81.0
8	17.0	83.0
12	15.0	85.0
16	13.0	87.0
20	11.0	89.0
24	8.0	91.0
28	7.0	93.0
32	5.0	95.0
36	3.0	97.0
40	0.0	100.0

Для того чтобы перейти от процентного содержания к количеству в миллилитрах, достаточно произвести расчет по формуле

$$V_{щ} = \frac{V_{общ} \cdot X}{100},$$

где X — найденная по номограмме или в таблице величина щелочной секреции в процентах (аналогичный расчет для определения количества кислого секрета). Номограмма, предложенная В. Д. Блиновым (1966), позволяет без вычислений произвести парциальное определение количества щелочного и кислого секретов в миллилитрах и истинный дебит соляной кислоты в миллиграмм-эквивалентах.

Информация, вытекающая из теории изохлоргидрии, может представлять значительный интерес для исследователя, изучающего желудочную секрецию у человека. Вместе с тем нельзя не отметить, что данная теория, как и все другие, в определенной степени ограничена и некоторые ее положения кажутся приблизительными. В частности, состав слизи подвержен резким колебаниям (особенно при некоторых патологических состояниях в желудке) и соотношение между щелочностью муцинов и бикарбонатами в жидкой части не всегда постоянно. Кроме того, теория изохлоргидрии не охватывает патологии, и по этой причине выводы, делаемые на ее основе, иногда могут содержать в себе ошибки.

Беззондовые методы определения кислотности. В настоящее время для изучения желудочной секреции, и в частности кислотообразующей функции желудка, в клинике пользуются целым рядом так называемых беззондовых методов. Эти методы дают косвенную характеристику функций желудка, и точность их является частым предметом научных дискуссий. Однако то обстоятельство, что с их помощью можно получить представление о функциональной деятельности желудка, не подвергая обследуемого зондированию, имеет огромное стимулирующее значение для их развития и совершенствования. Это вполне понятно, так как зондирование, во-первых, является грубым вмешательством, несомненно в той или иной мере искажающим нормальную работу секреторного аппарата, и, во-вторых, эта процедура в ряде случаев клинически противопоказана или нежелательна (у больных с гипертонией, пороками сердца, желудочным кровотечением, аневризмой аорты, варикозными узлами пищевода, у престарелых и в детской практике).

Большинство беззондовых методов исследования кислотности желудочного содержимого основано на приеме per os ионообменных смол, связанных с каким-либо легко поддающимся исследованию низкомолекулярным соединением (хинин, PAS, краситель и др.). В желудке H^+-ионы вступают в реакцию с ионообменной смолой, освобождается эквивалентное количество низкомолекуляр-

ного соединения, которое резорбируется и может быть количественно определено в моче.

Первой пробой, основанной на принципе обмена ионами, была хининовая проба, предложенная Сегалом и др. (Segal a. oth., 1950). Обследуемый принимает внутрь препарат синтетической ионообменной смолы (амберлит JRS-50 и XE-96), обогащенной солянокислым хинином. В желудке под влиянием H^{+}-ионов соляной кислоты от смолы отщепляется катион хинина. По количеству хинина, выделенного с мочой в течение определенного отрезка времени, судят о количестве свободной соляной кислоты в желудке (определение хинина в моче: Kelsey, Geiling, 1942; Шилов и Казбинцев, 1963; Канищев, 1964, и др.). Упрощенный вариант флюоресцентного метода определения хинина в моче опубликован А. Г. Гукасяном и др. (1959).

В дальнейшем Сегал и др. (Segal a. oth., 1955) заменили хинин красителем Азур-А, упростив тем самым методику. Комплекс амберлит XE-96—Азур-А называется Diagnex-Blue (Segal a. oth., 1955; Goldbloom a. oth., 1955; Bolt a. oth., 1957; Bock a. Witts, 1961; Nieburgs a. oth., 1965, и др.). Препараты ионообменной смолы КУ-1 и КУ-2, обогащенной солянокислым хинином, были успешно использованы Л. А. Андреевой (1959), А. Г. Гукасяном и др. (1959) и др. Из отечественной смолы марки КБ-4-2П, соединенной с хинином или с Азуром-II, был изготовлен индикаторный ионообменник [5] (Канищев, 1959, 1960), широко применяемый при беззондовом исследовании кислотности (Канищев, 1959, 1960; Андреева, 1959; Серегин и Эйдинов, 1963, и др.).

Установлено, что экскреция хинина в пределах 50—150 мкг соответствует нормальным, менее 50 мкг — пониженным и более 150 — повышенным показателям кислотности (цит. по: Туголуков, 1965). Количество Азура-II в моче при наличии свободной HCl в желудке не превышает 0.3 мг (Канищев, 1964).

В качестве обменного компонента может быть использована п-аминосалициловая кислота, которую легко определить в моче с помощью реактива Эрлиха (Pelican, Placer, 1953).

При беззондовых исследованиях кислотности желудочного содержимого довольно широко применяется предложенный шведами (Bianchetti u. Gerber, 1958) препарат гастротест (Хитрово-Горева, 1960; Hammerl u. Holler, 1961; Saleh, 1962; Galdi, 1966; Komorowski, 1966, и др.). В состав гастротеста входят: 2 таблетки кофеин-бензоата натрия по 0.2 г и 3 таблетки красящего вещества 3-фенил-азо-2,6-диамино-пиридина по 0.05 г. Обследуемый натощак принимает кофеин, увеличивающий секрецию желудочного сока, и безвредное красящее вещество. Связанный с белком азо-

---

[5] Подробное описание способа изготовления индикаторных ионообменников и методов исследования кислотности с их помощью приводится в сводке П. А. Канищева (1964).

пиридиновый краситель растворяется в желудке в количестве, зависящем от количества соляной кислоты, и поступает в мочу, окрашивая ее с разной интенсивностью. Интенсивность красного окрашивания мочи сравнивается со шкалой с двумя цветными зонами, указывающими на содержание соляной кислоты в желудочном соке (Хитрово-Горева, 1960; Blum, 1960). В аналогичной пробе с венгерским препаратом ацидотест используется краситель 2,4-диамино-4-этоксиазобензол (Held, 1965; Klose u. Csef-falvay, 1965).

Для определения кислотности без зонда может быть использован радиоактивный Ca^{45} в виде его углекислой соли $Ca^{45}CO_3$. В желудочном соке под действием соляной кислоты образуется $Ca^{45}Cl_2$, который резорбируется и может быть определен в моче (Тодоров, 1963).

По мнению большинства исследователей, описанные выше беззондовые методы исследования кислотности приносят данные, совпадающие с результатами фракционного исследования желудочного содержимого, лишь в случаях ахлоргидрии. Использование этих методов для количественного определения кислотности нецелесообразно, поскольку на выделение низкомолекулярного компонента ионообменника влияет множество экстрагастральных факторов и получаются весьма приближенные результаты.

Определение pH желудочного содержимого. Метод титрования в присутствии красящих индикаторов, как уже упоминалось выше, дает не совсем точные данные об истинной кислотности желудочного содержимого (концентрации свободных H^+-ионов). Между тем сведения об этом показателе очень важны, так как именно содержание свободных H^+-ионов имеет решающее значение для оптимального действия ферментов. Концентрация водородных ионов влияет на степень ионизации субстрата, на степень ионизации самого фермента (наибольшее значение при этом имеет ионизация активного центра фермента). Концентрация H^+-ионов влияет также на степень ионизации фермент-субстратного комплекса, и, наконец, на конформацию белковой молекулы фермента и ряд других факторов, определяющих скорость реакции. Более точные данные об актуальной кислотности желудочного содержимого дают методы электрометрического измерения pH с помощью, например, стеклянных электродов.[6] Особенно предпочтительно электрометрическое определение перед обычным титрованием в случаях исследования натощак, когда

---

[6] Согласно международной конвенции, степень кислотности или щелочности раствора количественно выражают концентрацией водородных ионов (гэкв./л). Поскольку это число часто очень невелико, для выражения кислотности или щелочности раствора пользуются логарифмом концентрации H^+-ионов, взятым с обратным знаком. Эта величина называется водородным показателем и обозначается pH.

содержимое желудка перемешано со слюной, слизью и дуоденальным соком (Kronberger, 1959).

Наряду с измерением pH извлеченного желудочного содержимого широкое распространение получает исследование желудочного pH in situ, ставшее возможным благодаря введению радиоэлектроники в гастроэнтерологию. В настоящее время эндорадиозонды используются для регистрации pH, температуры и давления в желудочно-кишечном тракте. Возможности радиотелеметрических методов чрезвычайно широки, и в дальнейшем с их помощью будет измеряться активность ферментов, концентрация Cl^--ионов, величина ионизирующей радиации, парциальное давление O_2 и CO_2, наличие крови, электрическая активность мускулатуры разных отделов пищеварительного канала и другие параметры. Создание многоканальных радиотелеметрических систем даст возможность одновременного изучения желудочно-кишечного тракта у нескольких человек.

Любая установка для телеметрического исследования состоит из радиопередатчика, приемной антенны, радиоприемника и регистрирующего прибора. С помощью радиоприемного устройства регистрируются сигналы миниатюрного, легко проглатываемого передатчика (эндорадиозонда), который при прохождении через желудочно-кишечный тракт реагирует на определенные физиологические, физические или химические изменения среды (Белоусов и др., 1964).

В основу конструкции эндорадиозондов, предназначенных для измерения pH в пищеварительном канале, положен принцип электрометрического измерения концентрации водородных ионов. Датчиками служат электронные пары, состоящие из сурьмяного и каломелевого, сурьмяного и хлорсеребряного, стеклянного и хлорсеребряного электродов. В зависимости от концентрации водородных ионов между электродами возникает разность потенциалов. Исследование pH с помощью радиозонда сопровождается рентгеноскопическим контролем положения капсулы.

В результате интрагастрального определения pH получаются более точные данные о динамике секреции, так как метод не сопровождается откачиванием желудочного содержимого, что само по себе не является физиологичным, так как прерывается цепь рефлекторных реакций, существующих при естественном процессе пищеварения. При этом способе исследования возможно применение любых раздражителей, видна непосредственная ответная реакция на них, продолжительность и окончание секреции. Методы интрагастрального определения pH просты и более надежны в сравнении с другими методами (Линар, 1957; Ottenjann, 1963; Бабский и др., 1964а, 1964б; Белоусов и др., 1964, и мн. др.).

Как правило, при параллельном измерении pH in vivo и in vitro наблюдается разница, иногда превышающая 1. Интрагастральное определение pH дает более низкие цифры. Это, по-ви-

димому, объясняется тем, что при введении капсулы в желудок последняя благодаря перистоле непосредственно прилегает к стенке желудка, где концентрация H^+-ионов выше, чем в извлеченном желудочном содержимом.

Протеолитическая активность желудка

При исследовании протеолитической функции желудка следует прежде всего четко дифференцировать две задачи, требующие создания разных методических условий: 1) определение количества пепсина в содержимом желудка; 2) определение общей протеолитической активности желудочного содержимого.

Если задача заключается в определении количества пепсина, то желудочное содержимое приводят к стандартным условиям pH (обычно в диапазоне от 1.2 до 2.4, но в строго определенных точках);[7] субстрат добавляют в виде забуференного раствора с таким же pH. При исследовании общей протеолитической активности субстрат в виде забуференного раствора или твердой фазы добавляется к нативному желудочному содержимому.

Определение количества пепсина распространено шире, однако оно не отражает истинной способности желудка к протеолизу. Действительно, в естественных условиях процесс расщепления белковых субстратов обеспечивается одновременным действием нескольких протеаз, сосуществующих в желудочном содержимом и в тканях желудка. Оптимум pH этих ферментов (гастриксин, парапепсин, катепсин, желатиназа) иногда существенно отличается от такового для пепсина. Более того, даже пепсин, отделяющийся пилорическим и фундальным отделами желудка, имеет различный оптимум pH (Taylor, 1959, и др.). Ввиду этого исследование общей протеолитической активности желудочного содержимого, как нам кажется, позволяет точнее оценить протеолитическую функцию желудка, так как переваривание белкового субстрата происходит при действительно существующих в каждом конкретном случае величинах pH и с участием всех имеющихся протеаз, а также стимуляторов и ингибиторов протеолиза.

Следующим вопросом, на который хотелось бы обратить внимание перед описанием методов исследования протеолитической функции желудка, является вопрос о способах оценки ферментовыделения. Имеются данные о том, что концентрация протеаз в содержимом желудка не является исчерпывающим показателем ферментовыделения. Так, Г. Ф. Коротько (1965) показал, что под влиянием высокой внешней температуры и инсоляции выделение пепсина за секреторный период резко уменьшилось, тогда

---

[7] Границы pH, оптимальные для активности пепсина, равны 1.2—2.4. При pH ниже 0.7 и выше 4.5 активность пепсина подавляется. Это дало основание назвать pH 4.5 точкой «протеолитической нейтрализации» пепсина (Bockus, 1963).

как концентрация ферментов (в ед./мл) у опытных животных существенно увеличилась. Таким образом, истинное состояние ферментовыделительной функции желудка может быть охарактеризовано произведением концентрации фермента на объем секреции за 1 час или любой другой достаточно длительный промежуток времени. Иной способ оценки приводит иногда к выводам, совершенно не соответствующим действительности.

Определение протеолитической активности по методам Метта и Гросса безусловно устарело. В лабораторную практику входит все большее количество хороших и точных методов исследования активности протеаз. Ниже излагаются принципы, положенные в основу использующихся в настоящее время методов, и приводится описание некоторых методов.

1. Определение протеолитической активности по расщеплению белковых субстратов с последующим учетом неосаждаемых белковыми осадителями продуктов. Наиболее популярными являются методы, представляющие собой модификацию метода Энсон—Мирски (Anson a. Mirsky, 1932), в которых интенсивность протеолиза определяется по приросту свободного тирозина и триптофана на основе реакции Фолина. Возникающая при добавлении реактива синяя окраска пропорциональна в широких пределах концентрации фермента, стабильна и хорошо колориметрируется. Значительно большей чувствительностью обладает определение гидролизованного белка по методу Лоури (Lowry et al., 1951). Определяются такие количества, как 0.2 мкг белка.

В качестве субстрата в этих и многих других методах подобного рода используется гемоглобин. Денатурированный гемоглобин переваривается при стандартных условиях, непереваренный гемоглобин осаждается трихлоруксусной кислотой (ТХУ), а количество неосажденных продуктов его расщепления служит косвенным показателем активности присутствующей протеиназы. Гемоглобин в отличие от казеина и желатина представляет собой воспроизводимый субстрат. Определенный раствор протеиназы переваривает различные препараты гемоглобина с одинаковой скоростью.

Определение протеолитической активности желудочного сока по методу Уголева (1958). Метод основан на количественном определении прироста свободного тирозина и других циклических аминокислот под влиянием протеаз желудочного сока во фракциях, не осаждаемых ТХУ. В качестве субстрата используются сухие препараты комплекса денатурированных мышечных белков и клейковины.[8] Фенольный реактив Фолина—Чиокаль-

[8] Б. И. Сабсай (1966) при определении общей протеолитической активности вышеописанным методом использовал в качестве субстрата лиофильно высушенную сыворотку крови крупного рогатого скота.

теу (Folin a. Ciocalteu, 1927) непосредственно перед опытом разводится дистиллированной водой в 3 раза.

Ход определения следующий. В ряд пробирок вводятся навески растительных или животных белков в количестве 50 мг (взвешивание на торзионных весах). Затем туда же возможно быстрее добавляется 0.5—1.0 мл профильтрованного желудочного сока, после чего пробирки инкубируются в водяной бане в течение 30—60 мин. при температуре 38°. Ферментативная реакция приостанавливается добавлением в каждую пробирку 10 мл 0.3 М раствора ТХУ. Пробы фильтруют через плотный фильтр. В пробирки, заполненные 10 мл 0.5 М раствора NaOH, переносят по 5 мл фильтрата, после чего к каждой пробе добавляют по 3 мл реактива Фолина—Чиокальтеу, предварительно разведенного. Интенсивность развивающейся окраски определяется колориметрией в фотоэлектрическом колориметре против дистиллированной воды. Для учета свободного тирозина, содержащегося в желудочном соке и в субстрате, но не связанного с гидролизом последнего, проделывается контрольное определение. При вычислении активности протеолитических ферментов желудочного сока от величины оптической плотности опытной пробы вычитают величину оптической плотности контроля. Полученный результат характеризует прирост тирозина в процессе протеолиза. Протеолитическая активность может быть выражена в условных пепсиновых единицах, а также в миллиграммах пепсина и тирозина, содержащихся в растворе (Нортроп и др., 1950).

Определение протеолитической активности желудочного сока по методу Баскина (1965). Метод основан на определении количества неосаждаемых белковыми осадителями продуктов расщепления белковых субстратов с помощью биуретовой реакции. Альбумозы и пептоны, образующиеся в результате действия протеаз на белковый субстрат, в щелочной среде дают с биуретовым реактивом цветную реакцию. Нерасщепленные белки осаждаются ТХУ. По интенсивности образующейся окраски судят о количестве расщепленного белка, которое зависит от концентрации ферментов в исследуемом растворе.

В качестве белкового субстрата используют 2%-ю сухую плазму крови. Для исследования требуется 1 мл профильтрованного через бумажный фильтр желудочного сока, который разводится в 10 раз дистиллированной водой. Предварительно строится калибровочная кривая с использованием кристаллического пепсина и составляется таблица, в которой сопоставляется оптическая плотность растворов, зависящая от количества расщепленного белка, и количество пепсина в растворе.

Вычисление производится по формуле

$$K_x = \frac{C}{C_1} K_1,$$

где K_x — концентрация пепсина в исследуемом желудочном соке; C — объем желудочного сока, в котором производится определение пепсина (обычно в 100 мл); C_1 — объем желудочного сока, взятого в опыт; K_1 — количество пепсина, найденное по таблице соответственно экстинкции опытной пробы.

Концентрация фермента в исследуемом желудочном соке выражается в миллиграмм-процентах пепсина.

2. Исследование протеолитической активности, основанное на определении количества негидролизованного белка.

Метод Туголукова (1961, 1962). Принцип этого метода, выделяющегося своей простотой и точностью, заключается в следующем. Профильтрованный желудочный сок в количестве 0.01 мл при температуре 37° в течение 20 часов гидролизует определенное количество 2%-й сухой плазмы, приготовленной на 0.01 н. растворе HCl. Затем в каждую пробирку добавляется по 2 мл 10%-го раствора ТХУ. После центрифугирования отмечается величина осадка в опытном и контрольном (компоненты те же самые, но без инкубации) образцах. Далее вычисляется показатель переваривания субстрата по формуле

$$m = (A - B)\frac{40}{A},$$

где 40 — постоянная величина, установленная экспериментально; A — величина осадка в контроле; B — величина осадка в опыте.

Пересчет показателя переваривания плазмы (величина m) на содержание фермента в исследуемом материале производится с помощью специальной таблицы. Концентрация пепсина выражается в миллиграмм-процентах фармакопейного препарата. Согласно данным В. Н. Туголукова (1965), концентрация пепсина в тощаковом содержимом желудка составляет 0—2100 мг%, а после раздражителя — 2000—4000 мг%. Следует оговорить, что фармакопейный препарат пепсина содержит 1% кристаллического пепсина. Следовательно, истинная концентрация пепсина равна в тощаковом содержимом 0—21 мг%, а после раздражителя — 20—40 мг%.

3. Определение протеолитической активности, основанное на изменении сорбционных свойств белка при его гидролизе. В качестве субстрата для определения ферментативной активности используется белок, предварительно обработанный красителем или другим легко определяемым веществом. По мере гидролиза метка десорбируется и переходит в раствор. Процесс этот в широком диапазоне пропорционален переваривающей способности желудочного содержимого. В пределах каждой клиники белковый субстрат легко стандартизировать по кристаллическому пепсину. Приводим краткое описание одного из таких методов.

Метод Клотца и Дьюволла (Klotz a. Duvall, 1957) в модификации Пайпера (Piper, 1960). Прин-

цип метода заключается в следующем. Обработанный радиоактивным иодом сывороточный альбумин инкубируется с желудочным соком. В процессе переваривания субстрата высвобождается J^{131}, количество которого пропорционально пептической активности желудочного сока.

Приведем ход определения. В 3 пробирки помещают по 1 мл обработанного радиоактивным иодом сывороточного альбумина. В 1-ю пробирку добавляют 6 мл дистиллированной воды, во 2-ю — 1 мл 6%-го раствора человеческого альбумина и 4 мл буферного раствора Соренсена,[9] в третью пробирку — 1 мл 6%-го раствора человеческого альбумина и 3 мл буферного раствора. Пробирки 2 и 3 инкубируют при температуре 37° в течение 30 мин., после чего в пробирку 3 помещают 1 мл желудочного сока (или раствора пепсина, приготовленного на буфере). Проводят 15-минутную инкубацию, в конце которой в обе пробирки добавляют по 1 мл 50%-го раствора ТХУ для осаждения непереваренного белка, который затем отделяется центрифугированием. Измеряют количество J^{131} в 4 мл надосадочной жидкости, изъятой из 2-й и 3-й пробирок, и в таком же объеме обработанного радиоактивным иодом раствора сывороточного альбумина из 1-й пробирки. Пептическая активность подсчитывается следующим способом:

$$\frac{J^{131}\ (\text{в пробирке 3}) - J^{131}\ (\text{в пробирке 2})}{J^{131}\ (\text{в пробирке 1}) - J^{131}\ (\text{в пробирке 2})} \times 100\%.$$

Концентрацию пепсина находят по стандартной кривой. Если исследуется пептическая активность желудочного сока, то обычно его разводят, причем разведение зависит от ожидаемой пептической активности, которая должна лежать приблизительно в линейной части кривой.

Результаты метода воспроизводимы с коэффициентом корреляции менее 5%.

4. **Определение протеолитической активности по Пятницкому** (1965). Метод основан на способности пепсина створаживать молоко. Существует определенный параллелизм между концентрацией пепсина и временем створаживания молока. При строгом соблюдении pH, температуры и при постоянстве субстратов по данным створаживания можно судить о концентрации фермента. Добавление желудочного содержимого (0.1 мл) к субстрату (молочно-ацетатная смесь pH 5.0) при температуре 25° вызывает створаживание молока, которое определяется визуально (появление хлопьев казеина в пробирке). Концентрация пепсина выражается в миллиграммах и подсчитывается по формуле

$$X = \frac{a}{b \cdot 10},$$

[9] Состав буфера Соренсена: 7.51 г глицина + 5.85 г хлористого натрия доводят до 1 л дистиллированной водой и смешивают с 1 л 0.1 н. раствора HCl.

где a — время створаживания в контрольной пробирке, b — в опытной.

В качестве контроля используется 0.1 мл 10 мг%-го раствора кристаллического пепсина, приготовленного на 0.05 н. растворе HCl. Этот эталон обычно створаживает 5 мл молочно-ацетатной смеси примерно в течение 60 сек., что условно принято за единицу пепсина, эквивалентную 0.01 мг чистого пепсина.

К достоинствам метода следует отнести его простоту и быстроту. Однако он основан на косвенных показателях протеолитической активности, поэтому недостаточно точен и является ориентировочным.

Беззондовые методы определения протеолитической активности желудка. Наряду с определением протеолитической активности в содержимом желудка, извлеченном посредством зондирования (методы in vitro), существует целый ряд косвенных методов, дающих представление о ферментообразующей функции желудка in vivo.

Сущность одного из первых методов исследования протеолитической активности желудочного содержимого без зонда, десмоидной пробы Сали, заключается в следующем: исследуемый глотает резиновый мешочек с метиленовой синью, перевязанный кетгутовой нитью. Десмоидные мешочки изготовляются из тонкой эластичной резины около 0.5 см в диаметре, в них помещается по 0.15 г метиленовой сини. О переваривающей способности желудочного сока судят по времени появления и интенсивности окрашивания мочи, которая собирается через 3, 5, 22 часа после проглатывания мешочка. Появление через 5—12 часов синей или зеленой окраски в моче является косвенным показателем нормального протеолиза, который может осуществляться при наличии пепсина и необходимой pH в желудочном содержимом (Анисимов, 1960; Grabener, 1960; Тодоров, 1963; Ташев, 1964; Dobrowolski, 1964; Сквабченкова, 1965, и мн. др.).

К недостаткам десмоидной пробы относится длительное собирание мочи (в течение суток) и главное — зависимость окраски мочи от ее состава, количества, т. е. практически от функционального состояния целого ряда органов.

Модификация десмоидной пробы, при использовании которой о протеолитической активности желудка судят по времени появления в слюне иода после проглатывания резинового мешочка, наполненного иодистым калием и перевязанным кетгутом, разработана Ц. Г. Масевичем. Обследуемому натощак дают завтрак Эвальда—Боаса (100 г белого хлеба и стакан слабого чая без сахара). Через 40 мин. после завтрака обследуемый проглатывает десмоидный мешочек с иодистым калием (0.4 г), перевязанный кетгутом (№ 0). Спустя 20 мин. начинают собирать в пробирки слюну каждые 5 мин. в количестве 1.0—2.0 мл. К каждой порции слюны немедленно добавляют 5 капель концентрированной HCl

и 5 капель 1%-го раствора крахмала. Появление спустя 2—3 мин. синего окрашивания в смеси свидетельствует о наличии иода в слюне. Отмечают время, прошедшее с момента проглатывания мешочка до появления в слюне иода. В случаях отрицательной реакции исследование продолжается до двух часов от момента проглатывания десмоидного мешочка.

При оптимальных условиях переваривания кетгута в желудке иод появляется в слюне через 23—33 мин. Удлинение этого срока говорит об ухудшении условий переваривания, а отсутствие иода через 120 мин. после проглатывания мешочка — об отрицательной пробе (отсутствие пепсина или соляной кислоты). Следует помнить, что при высокой концентрации свободной соляной кислоты (pH ниже 1.6—1.5) время переваривания также удлиняется и иод появляется в слюне позднее. Свидетельством хорошего переваривания в желудке является раннее (через 30—60 мин.) появление иода в слюне.

Определение активности пепсиногена в крови. Небольшая часть пепсиногена попадает в кровь, а оттуда посредством клубочковой фильтрации выделяется с мочой. Считают, что пепсиноген плазмы, так же как и пепсиноген мочи, идентичен кристаллическому пепсиногену (Bucher, 1947; Podore a. oth., 1948, и мн. др.).

На этом явлении основаны косвенные методы определения пептической активности желудочного сока, выполняемые in vivo.

Исследование пепсиногена в крови дает достаточно надежное представление о способности слизистой желудка к выделению пепсина (Sievers, Jallagher, 1959; Edwards et al., 1960; Ronský a. Skála, 1961; Bock a. oth., 1963); получаемые данные соответствуют состоянию слизистой желудка (Bock a. oth., 1963, и др.). Установлено, что уровень пепсиногена в крови постоянен в течение дня (колебания в пределах 4—8%), не подвержен изменениям в зависимости от пола или возраста начиная после 20 лет (Mirsky a. oth., 1952, и др.).

Натощак корреляция пепсин в желудке—пепсиноген в сыворотке крови выражена хуже, чем когда железы желудка активно секретируют (Ronský a. Skála, 1961). Содержание пепсиногена в плазме у здоровых субъектов 250—300 ед./мл (Sievers, Jallager, 1959 — на 613 субъектах); 78 ед./мл (Edwards et al., 1960 — на 74 субъектах). Расхождение полученных данных связано, очевидно, с применением разных раздражителей.

Принцип, лежащий в основе измерения пепсиногена, заключается в превращении его в пепсин в кислой среде с последующим измерением протеолитических продуктов, получающихся при действии пепсина на субстрат. Вполне понятно, что для этого могут быть использованы самые разнообразные методы, в том числе и описанные выше методы определения протеолитической активности желудка.

Ниже приводится метод Мирски и др. (Mirsky a. oth., 1952), модифицированный Эдвардсом (Edwards et al., 1960). Из оксалатного образца крови обследуемого 2.5 мл прибавляют к 10 мл субстрата (2%-й раствор дегидрированной человеческой плазмы); pH смеси доводят до 2 добавлением 2 н. HCl, после чего объем доводится дистиллированной водой до 15 мл. Все тщательно перемешивается, и 6 мл смеси инкубируют в водяной бане при температуре 37° в течение 24 часов. Реакция приостанавливается добавлением 10 мл 4%-й ТХУ. Белковый осадок отделяется фильтрованием, после чего методом Фолина и Чиокальтеу в фильтрате определяется концентрация кислоторастворимых «тирозиноподобных» веществ (A). С этой целью в колбочку помещают 2 мл фильтрата, 3 мл цветного реагента и 20 мл 0.25 н. NaOH; смесь исследуется в фотоэлектрическом абсорбциометре при комнатной температуре.

Концентрация окрашенных субстанций, появляющихся в плазменно-перевариваемой смеси вне зависимости от инкубации (B), определяется следующим образом. К 6 мл смеси добавляют 10 мл ТХУ и фильтруют, дальнейшая обработка производится способом, описанным выше для пробы A. После продолжительной инкубации самого плазменного субстрата также появляются окрашенные вещества. Для того чтобы исключить влияние этого фактора на результаты исследования, ставят две контрольные пробы (C и D), в каждую из которых вносят 4 мл субстрата и 2 мл воды. Одна проба (C) далее обрабатывается подобно пробе A, т. е. инкубируется и т. д., другая — (D) подобно пробе B.

Из полученных показателей можно подсчитать количество окрашенных субстанций (в основном тирозина), высвобождающихся благодаря протеолитическому действию 1 мл плазмы.

Пример подсчета

Плазменный субстрат + вода, инкубированные (C)	40
Плазменный субстрат + вода, неинкубированные (D)	30
Окраска, развивающаяся при инкубации субстрата	10
Плазменно-переваренная смесь, инкубированная (A)	100
Плазменно-переваренная смесь, неинкубированная (B)	45
Окраска, вызванная инкубацией плазменно-переваренной смеси . .	55

При этом 10 ед. окраски развилось в результате инкубации самой плазмы (субстрата).

Отсюда окраска, зависящая от протеолитической активности плазмы, — 45.

Количество пепсиногена выражается в микрограммах или единицах тирозина, освобождающегося из 80 мг дегидрированной плазмы в течение 24 часов при 37°. В случае, когда определение нельзя произвести немедленно, плазма может сохраняться при температуре —10° в течение 3 недель.

Определение пепсиногена в моче. Для суждения о протеолитической функции желудка, особенно при нали-

чии противопоказаний к применению зонда, может служить определение пепсиногена в моче. Широко распространенный термин «уропепсин» кажется неверным, так как присвоение одному и тому же веществу — пепсиногену — различных названий в зависимости от места его выделения вносит ненужную путаницу в номенклатуру. Кроме того, уже в конце прошлого столетия появились данные, свидетельствующие о том, что протеолитическая активность мочи обеспечивается проферментом — пепсиногеном, а не пепсином. Пепсиноген из мочи в чистом виде не выделен, однако происхождение его доказывается полным исчезновением способности мочи к протеолизу после экстирпации желудка. Мертен и Войта (цит. по: Gregor, 1961) в 1954 г. наряду с пепсиногеном обнаружили в моче протеазу, названную ими урокатепсином. Спектр протеолитических ферментов в моче, имеющих желудочное происхождение, возможно, еще сложнее, однако вопрос этот изучен недостаточно.

Пепсиноген попадает в мочу из крови посредством гломерулярной фильтрации. Молекулярный вес пепсиногена 42 000, т. е. меньше молекулярного веса гемоглобина (69 000), который может выделяться здоровыми почками. Большинство исследователей считает, что количество пепсиногена в моче — величина постоянная, индивидуально характерная для каждого, и изменяется параллельно изменениям секреции. Выделение пепсиногена с мочой не зависит от диуреза, удельного веса мочи, ее pH. В соответствии с другой точкой зрения, между протеолитической активностью желудка и количеством пепсиногена в моче четкого параллелизма нет. Существование подобных противоречий понятно, поскольку при тех или иных изменениях функций желудка или выделительной системы, которые зачастую невозможно учесть, параллелизм между указанными показателями нарушается. Так, например, известно, что активность пепсина в желудочном соке зависит от pH среды и содержания слизи в нем. Серосодержащие мукополисахариды, входящие в состав слизи, вступая в комплексные соединения с белками, в частности с пепсином, могут понижать его активность вплоть до полной блокады. Связывание элементами слизи некоторого количества соляной кислоты может привести к тому, что pH не достигнет оптимума действия пепсина. В то же время протеолитическая активность мочи может быть в пределах нормы.

С учетом всего вышеизложенного, определение пепсиногена в моче иногда служит достаточно ценным тестом для исследования протеолитической функции желудка. При этом, поскольку концентрация пепсиногена в моче значительно (более чем в 100 раз) меньше, чем в желудке, может быть использован любой метод, обладающий достаточной чувствительностью, в частности гемоглобиновый метод Энсон—Мирски (Anson a. Mirsky, 1932), метод Туголукова (1965) и др.

4 Заказ № 1392

Ниже приводится описание метода Уэста и др. (West a. oth., 1952). Этот метод широко применяется для исследования пепсиногена в моче. Метод основан на определении скорости осаждения казеина при контакте активированного пепсиногена мочи (моча предварительно подкисляется) со смесью гомогенизированного молока с ацетатным буфером (pH 4.9). Приготовление буфера является наиболее ответственным моментом при пользовании этим методом. Буфер этот очень стоек и может храниться в течение нескольких месяцев. Однако pH следует регулярно проверять с помощью потенциометра с точностью до сотых долей, так как даже небольшие отклонения изменяют скорость створаживания молока.

Количество пепсиногена в моче выражается в единицах, выделившихся в течение 1 часа.

Расчет производится по формуле

$$\text{Пепсиноген мочи (в ед./час)} = \frac{1}{10} \times \frac{V}{vh}\left(\frac{100}{t}\right)1.32,$$

где v — объем мочи, использованный для определения; t — время, необходимое для достижения конца реакции; V — общий объем мочи, из которой отобран исследуемый образец; h — время, в течение которого собирали мочу.

При пользовании методом Уэста [10] содержание пепсиногена в моче у здоровых лиц после пробного завтрака колеблется от 20 до 50 ед./час (в среднем 35 ед./час). В ночное время количество пепсиногена в моче уменьшается. Суточное выделение пепсиногена в моче в течение недели колеблется в пределах 19—30% (Смирнов, 1961, и др.). По всей вероятности, в моче отсутствуют ингибиторы пепсиногена (Подильчак, 1967), так как протеолитическая активность ее практически не изменяется при комнатной температуре в течение трех дней (Симбирцева, 1960; Подильчак, 1967).

Для определения пепсиногена в моче Л. И. Идельсон (1958) использовала метод Уэста и др. (West a. oth., 1952), взяв вместо гомогенизированного молока обычное нежирное сырое коровье молоко. В связи с этим было введено дополнительное исследование — определение скорости створаживания молока по стандартному раствору пепсина.

В заключение хотелось бы отметить, что к суждению о протеолитической функции желез желудка на основании показателей пепсиногена в моче следует относиться с осторожностью. Действительно, метод этот является косвенным и наряду с протеолитической функцией желудка количество пепсиногена в моче зависит от целого ряда экстрагастральных факторов.

---

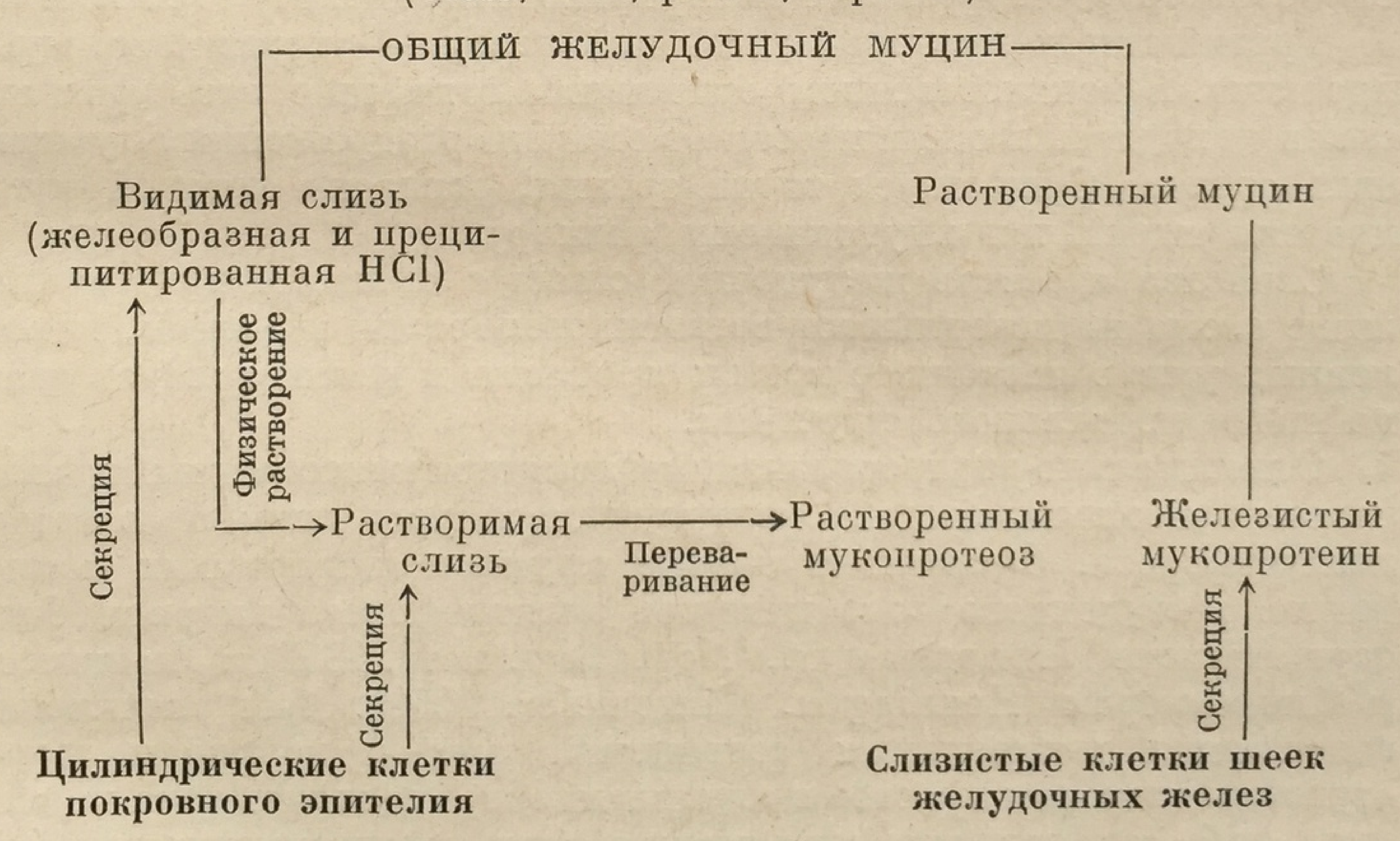
[10] Подробное описание метода Уэста см.: Подильчак, 1967.

Крупномолекулярные компоненты желудочного секрета

Использование современных методов физико-химического исследования желудочного секрета (ультрацентрифугирования, электрофореза, хроматографии) позволило охарактеризовать целый ряд крупномолекулярных соединений органического происхождения. Особенно интересными в этом отношении были результаты анализа химического состава желудочной слизи. Наряду с широко известными в настоящее время веществами (внутренний фактор, некоторые протеолитические ферменты и ряд продуктов экскреции) в составе желудочной слизи были найдены такие вещества, как просветляющий фактор (при парэнтеральном введении извлекает жир из сыворотки крови), гипотетический муколизин, водорастворимые вещества, характерные для той или иной группы крови (A, B, H), наконец, такие необычные вещества, как токсогормоны, найденные японскими исследователями в желудочном содержимом больных раком, и т. д. (Glass, 1963).

Одним из главных источников слизи в желудке являются клетки покровного эпителия. Помимо этого, слизь секретируется добавочными, или, как их еще называют, слизистыми, клетками, локализованными в шеечном отделе желез тела и дна желудка, а также в железах пилорического и кардиального отделов желудка (см. ниже схему).

Происхождение компонентов желудочной слизи (Glass, 1953, рис. 1, стр. 641)



Желудочная слизь представляет собой коллоидную жидкость, содержащую белки, углеводы, неорганические вещества и клеточные элементы. Непосредственно в момент отделения слизь

имеет pH 7.4, но этот показатель сразу меняется в зависимости от присутствия или отсутствия HCl в желудочном содержимом. Слизь характеризуется высокой вязкостью и сцепляемостью с клетками поверхности и частицами пищи. Известны следующие формы слизи в желудке: видимая слизь, растворенная слизь.

Видимая слизь при анацидном соке выявляется в нативном желеподобном состоянии, в то время как в кислом соке эта форма слизи обнаруживается в виде нитей или глыбок. Согласно концепции Холландера (Hollander, 1954), физиологическая роль видимой слизи наряду с защитой слизистой оболочки желудка от разного рода травм заключается в абсорбции ферментов, нейтрализации HCl и вымывании некоторых вредных субстанций, контактирующих с ней.

С помощью химического и электрофоретического фракционирования Гласс (Glass, 1953) идентифицировал три типа растворенной желудочной слизи. Первый, который он назвал «растворимая слизь», по всей вероятности, представляет собой продукт физического растворения некоторой части видимой слизи до ее дальнейших ферментативных превращений (некоторая часть ее, однако, секретируется из клетки прямо в такой полужидкой форме).

Вторая фракция, названная автором «растворимая мукопротеоза», представляет собой комплекс промежуточных продуктов ферментативного переваривания слизи, ограничивающей клетки поверхностного эпителия. По химическим свойствам мукопротеозы относят к группе мукополисахаридов (Kent, 1963). Способность этой фракции нейтрализовать кислоту очень мала.

Третий тип желудочной слизи по Глассу — «железистый мукопротеин». В количественном отношении отделение этой фракции слизи находится в зависимости от степени раздражения блуждающих нервов. Существует точка зрения, согласно которой мукопротеин идентичен внутреннему фактору.

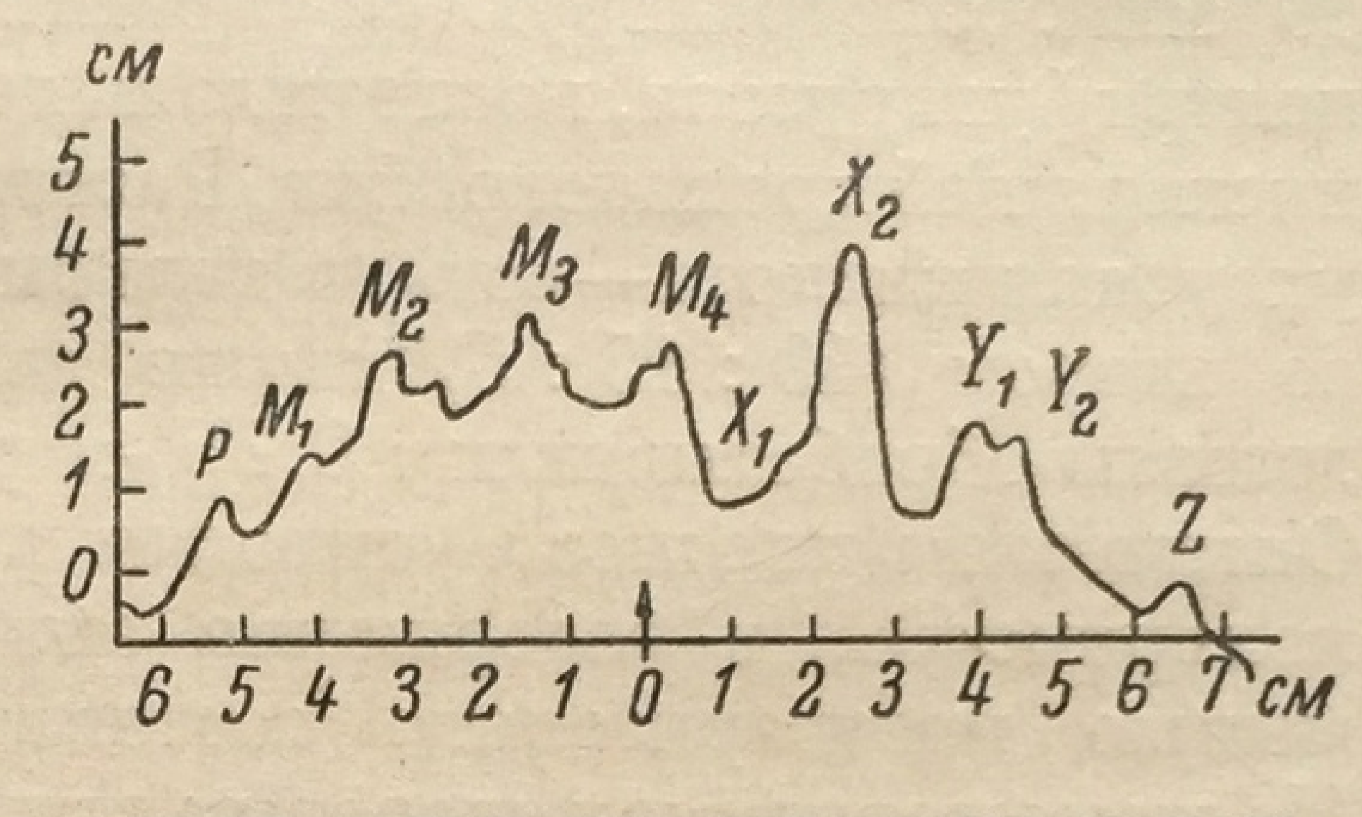
Свойства и состав желудочной слизи сложны, и приведенная выше схема не исчерпывает всего многообразия сведений, накопленных уже в настоящее время; проблема в целом требует дальнейшего тщательного изучения.

Относительно распространенным является качественный и количественный анализ состава желудочного секрета с помощью метода электрофореза. Фракционирование крупномолекулярных компонентов желудочного сока методом электрофореза впервые было осуществлено Норпосом и др. (Norpoth u. and., 1952) и Хеннингом и Кинцемеером (Henning u. Kinzemeier, 1952). Для увеличения содержания исследуемых соединений они предложили метод «сухой капли» или простое высушивание желудочного сока на воздухе либо в термостате при температуре, не превышающей 40°.

О п р е д е л е н и е к а ч е с т в е н н о г о с о с т а в а б е л к о в ж е л у д о ч н о г о с о к а (Масевич, 1961а). Нейтрализованный желудочный сок помещают на часовое стекло и дают ему

испариться на воздухе, в термостате или в сушильном шкафу (температура не выше 45°). В образовавшемся сухом пятне на часовом стекле видны две части — гладкий однородный ободок (белковая часть желудочного сока) и середина в виде менее однородной массы (неорганический остаток). Срединную часть снимают ваткой, смоченной в боратном буфере, а ободок растворяют в боратном буфере (0.2 мл). Полученный раствор центрифугируют, и прозрачную жидкость наносят на предварительно смоченную буферным раствором хроматографическую бумагу. Разгон белковых фракций целесообразно проводить в течение 16 часов при напряжении 100—120 в в вертикальном приборе на полосках бумаги размером 40×3 см. Обработка лент производится обычным, принятым для белков сыворотки крови способом. Окрашенные и высушенные ленты денситометрируют в проходящем свете.

Обычно на электрофореграмме желудочного сока отмечается 8 пиков, обозначаемых от отрицательного полюса к положительному Z, Y, X, М-1, М-2, М-3, М-4 и Р. При сопоставлении с электрофореграммой сыворотки крови Р и М-4 соответствуют альбуминам, М-2 и М-3 — α-глобулинам, М-1 — β-глобулинам и X — γ-глобулинам; Y и Z пиков в сыворотке крови не содержится. Белковые фракции желудочного сока М-2, М-3, М-4, X, Y составляют каждая по 10—30% от общего количества материала; Р (пепсин) — 5—12%; М-1 (часть мукопротеина) — 5—10% и Z — 6%.



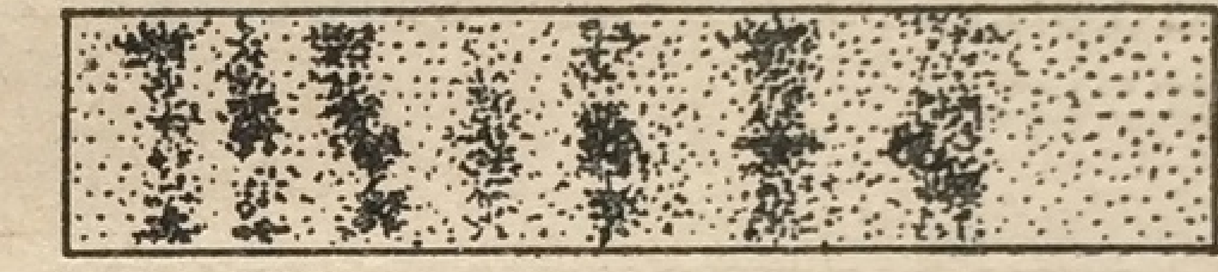


Рис. 6. Образец электрофореграммы желудочного сока здорового человека. (По: Glass, 1963, рис. 3, стр. 101).

Тонкий качественный, а также количественный анализ состава желудочного содержимого может быть проведен методом электрофореза на бумаге, разработанным Глассом (Glass, 1963). К особенностям этого метода следует отнести использование диализированного желудочного сока, боратного буфера, вертикальной электрофоретической аппаратуры, многократного окрашивания. Метод дает возможность анализировать от 8 до 11 компонентов высокомолекулярных соединений желудочного сока (рис. 6). С его помощью производят идентификацию просачивающихся в желудок альбуминов при белковотеряющих гастропатиях. Метод позволяет наиболее точно измерить количество пепсина в желудочном соке, причем колебания pH или присутствие других протеолитических ферментов не искажают результатов иссле-

дования. Недостатком метода Гласса является его трудоемкость.

Определение свободных аминокислот в желудочном соке объединенным методом Вергезе и Рамакришнана, Мура и Варрена (Краснобаева, 1964). В профильтрованном желудочном соке ацетоном осаждаются белки, после чего вторично профильтрованный желудочный сок досуха выпаривается. Из сухого остатка смесью очищенного фенола (0.6 мл) и бутанола (0.4 мл) в течение 30 мин. экстрагируются практически все ферменты. Экстракт центрифугируется, после чего надосадочная жидкость подвергается нисходящей хроматографии. Разгонка проводится в смеси бутанол—уксусная кислота—вода, в первом растворителе (1 : 1 : 1) два раза, во втором (40 : 15 : 5) также два раза. Подсушенные хроматограммы обрабатываются 0.2%-м раствором нингидрина в ацетоне. Оптическая плотность окраски проб измеряется на фотоэлектроколориметре, и содержание аминокислот рассчитывается с помощью предварительно составленных калибровочных кривых. На хроматограммах здоровых людей определяется от 8 до 12 аминокислот.

ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ СОДЕРЖИМОГО И СЛИЗИСТОЙ ЖЕЛУДКА

Прежде всего следует оговорить, что цитологический анализ желудочного содержимого включает в себя исследование: а) желудочного лейкопедеза, б) слущенных клеток слизистой оболочки желудка (собственно эксфолиативная цитология).

Наличие большого количества лейкоцитов в желудочном содержимом является показателем воспалительного процесса в слизистой оболочке желудка. Миграцию лейкоцитов из сосудистого русла в просвет желудка, по всей вероятности, можно рассматривать как охранительную меру против патогенных агентов, как экзогенного, так и эндогенного происхождения. В конце прошлого столетия этому феномену стали придавать определенное клинико-диагностическое значение (Захарьин и мн. др.). Оценка интенсивности лейкопедеза во многом зависит от метода получения материала. На показатели желудочного лейкопедеза влияет количество слюны и слизи, заглоченных изо рта, а также слизь самого желудочного содержимого. Всегда следует учитывать возможность поступления лейкоцитов из полости рта и носоглотки.

Метод последовательных промываний (Ясиновский, 1940). В основу этого метода положено стремление уменьшить влияние внежелудочных факторов на показатели желудочного лейкопедеза. Прежде всего обследуемому предлагают прополоскать рот физиологическим раствором NaCl (4 полоскания одно за другим и 6 — с пятиминутными интервалами).

По среднему количеству клеток в 1 мл промывных вод вычисляют интенсивность миграции лейкоцитов и десквамацию плоского эпителия и определяют соотношение между ними. За последним промыванием ротовой полости следует введение тонкого зонда, извлечение полностью «тощакового» содержимого и промывание желудка 1 л теплого физиологического раствора. Затем каждые 15 мин. промывание повторяется (каждый раз используется 250 мл физиологического раствора), всего 5 раз. Подсчет лейкоцитов и эпителиальных клеток и вычисление соотношения между ними производят в 3, 4 и 5 порциях промывных вод. В последних порциях у здоровых, по мнению автора, лейкоцитов не должно быть. Особое значение при этом методе исследования придают увеличению соотношения между числом лейкоцитов и эпителиальных клеток в желудке по сравнению с этим показателем в ротовой полости.

Метод Коржа (1948). В качестве стимулятора желудочной секреции при исследовании лейкопедеза автор использовал предложенный Н. И. Лепорским 33%-й алкоголь, вводимый в количестве 10 мл внутривенно. С помощью тонкого зонда полностью откачивается тощаковое содержимое желудка. Затем вводится указанный выше стимулятор желудочной секреции и через 10 мин. откачивается вторая порция желудочного содержимого в количестве 10 мл. Последующие 8 порций получают через 15-минутные промежутки времени в течение 2 часов, причем содержимое откачивается полностью. В продолжение всего исследования больному предлагают сплевывать слюну. От каждой порции желудочного содержимого определенная часть центрифугируется, осадок набирается в меланжер до метки 0.5, затем разбавляется 1%-м раствором хлористого натрия до 1.1. Подсчет лейкоцитов осуществляется в счетной камере в 100 больших квадратах. Авторы, пользующиеся этим методом, отмечают хорошую корреляцию между количеством и состоянием лейкоцитов и наличием кислоты в желудочном соке. К недостаткам этого метода следует отнести его громоздкость (исследование продолжается около 3 часов), нефизиологичность алкоголя как возбудителя секреции и, наконец, определение лейкоцитов не в самом содержимом, а в осадке.

Метод Новикова (1952). Этот метод с использованием тонкого зонда в качестве механического раздражителя секреции несколько проще. Через зонд откачивается тощаковое содержимое желудка. Затем в течение 1 часа полностью извлекаются 15-минутные порции содержимого, в каждой из которых сразу определяют количество лейкоцитов. С этой целью желудочное содержимое после тщательного смешивания набирается до метки 1 в смеситель для лейкоцитов, туда же до метки 1.1 добавляется физиологический раствор. Меланжер 2—3 мин. энергично встряхивается. Подсчет лейкоцитов и их ядер осуществляется в 100 больших квадратах камеры Горяева, после чего производится пере-

счет на 1 мл содержимого. Оценка желудочного лейкопедеза делается на основании среднего арифметического из 4 порций (тощаковая порция исключается).

При исследовании желудочного лейкопедеза наряду с подсчетом количества лейкоцитов производят микроскопию мазка, изготовленного из осадка желудочного содержимого; мазок обрабатывается подобно мазкам крови и окрашивается обычно по Романовскому—Гимза (Westphal, Kuckuck, 1933; Виллако и Ханге, 1959, и др.).

До последнего времени нет единого мнения по вопросу об уровне лейкопедеза у здоровых лиц. Некоторые исследователи считают, что лейкоциты, находимые в желудке при отсутствии в нем органических поражений, имеют экстрагастральное происхождение и миграция лейкоцитов в норме почти отсутствует (Ясиновский, 1940; Городецкий, 1958, и др.). Более распространенным является представление, согласно которому обнаруживаемые в содержимом желудка здоровых людей лейкоциты имеют желудочное происхождение. Миграция лейкоцитов через слизистую оболочку происходит постоянно и увеличивается при наличии воспалительных изменений. Нормальным принято считать количество лейкоцитов до 300 в 1 мл содержимого (Корж, 1948; Новиков, 1952; Жамеричев, 1953).

Эксфолиативная цитология. Как уже указывалось, помимо исследования в желудочном содержимом количества лейкоцитов, производится собственно цитологический анализ желудка (эксфолиативная цитология). Эксфолиативная цитология основана на исследовании слущенных клеток поверхностного эпителия слизистой оболочки; феномен этот в патологических условиях значительно интенсивнее, чем в физиологических (Schade, 1960, и мн. др.).

В настоящее время используются три способа получения клеточного материала для цитологического анализа: метод промываний, механический метод с применением абразивных инструментов, метод промываний с использованием протеолитических веществ.

Методы промывания распространены особенно широко, так как они не требуют специальных приборов. Ниже приводится краткое описание одного из этих методов (Moyer, Zeldis, 1960). Натощак вводится зонд, и желудок несколько раз промывается теплым физиологическим раствором для удаления остатков пищи. После этого в желудок вводится 150—200 мл физиологического раствора и зонд осторожно продвигается от дна желудка до привратника с целью наиболее полного соприкосновения со всеми отделами желудка.

Добытый материал рассматривается сначала в белом поле для обнаружения окрашенных кровью частиц, затем в черном поле для обнаружения светлых частиц. Осадок после центрифугирова-

ния фиксируется и окрашивается по Папаниколау (Panico, Papanicolaou a. Cooper, 1950). Фиксация и окраска, предложенные Папаниколау, широко используются в цитодиагностике и подробно описаны (Schade, 1960; Бахменд, 1964; Канищев, 1964, и др.).

Методы промывания позволяют исследовать клеточный материал со всей слизистой желудка, но количество этих клеток довольно скудно, причем часть их переварена.

Лучше сохраняется материал, получаемый абразивными методами, так как при этом извлекаются не слущенные клетки,

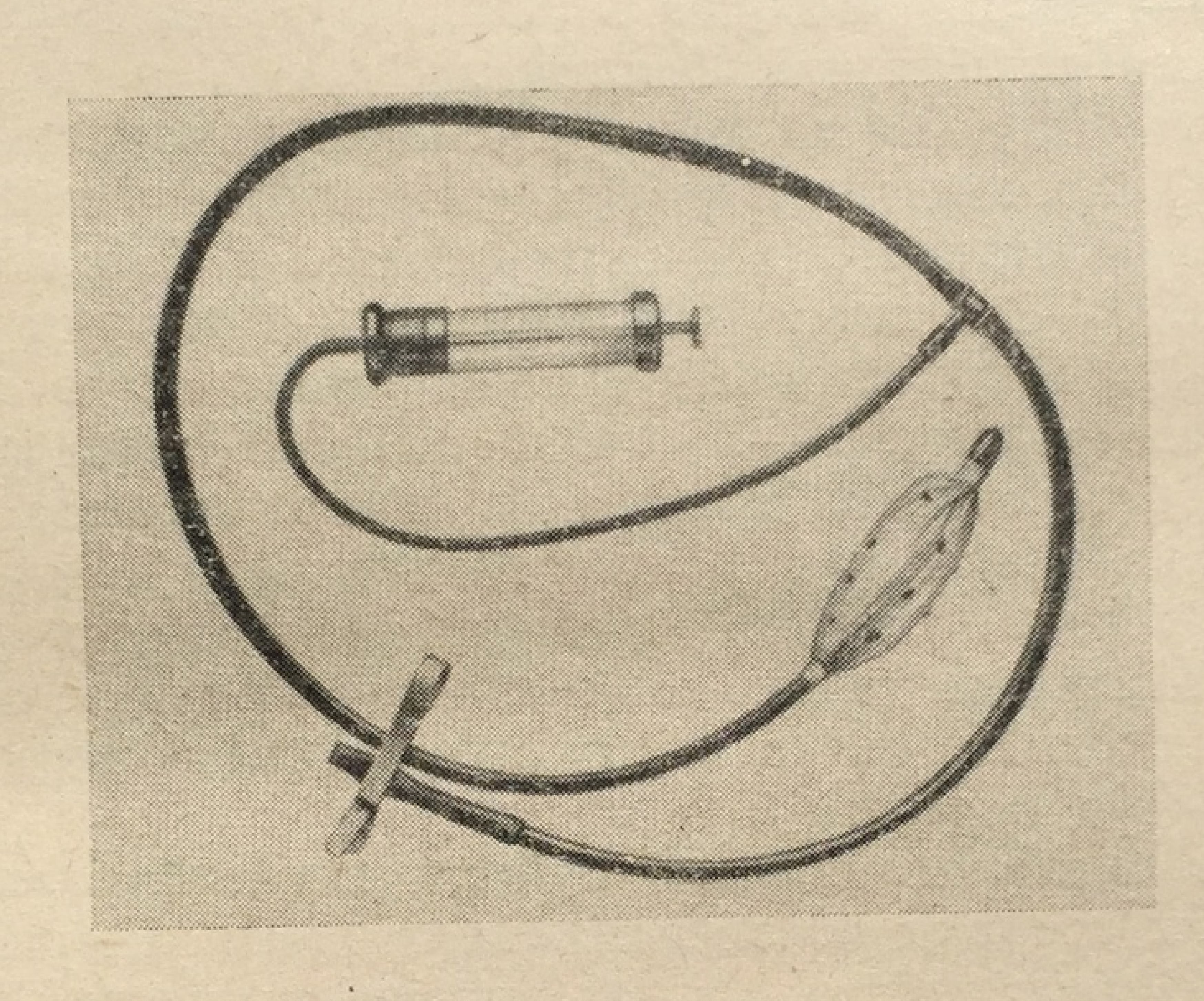


Рис. 7. Абразивный зонд-баллон. (По: Бахменд, 1964, рис. 1, стр. 60).

а клетки от функционирующей слизистой. Следует, однако, учитывать, что капроновые щетки (Ayre a. Oren, 1953), губка (Henning, 1952) и даже нейлоновые нити (Nieburgs a. oth., 1960), используемые в качестве абразивных инструментов, оказывают довольно грубое механическое воздействие на слизистую оболочку желудка. В общем точность результатов при абразивных методах меньше, чем при методах промывания, так как с их помощью извлекается материал с ограниченных участков слизистой. Особенно это замечание справедливо в тех случаях, когда повреждение локализуется в антральной или фундальной областях желудка. Недостатки абразивных методов до некоторой степени устраняются при использовании зонда с абразивным баллоном, изготовленным из тонкой резины (Шевченко, 1960, и др.). При раздувании баллона поверхность его соприкасается с большой частью слизистой оболочки желудка.

Г. А. Бахменд (1964) предложила использовать сочетание мягкой абразии с энергичным промыванием желудка. С этой целью был

использован двойной зонд (рис. 7); через внутреннюю, более тонкую, трубку отсасывается желудочное содержимое и вводится промывная жидкость в полость желудка, через наружную трубку вводится воздух в баллон, расположенный на конце зонда и сообщающийся с трубкой. На стенку баллона наклеиваются кусочки губчатой резины. Исследуются 5 порций: 1-я порция — тощаковое содержимое желудка; 2-я и 3-я порции — извлеченные из желудка промывные воды (вводится по 150 мл раствора Рингера каждый раз); 4-я порция — также промывные воды (вводится 50—60 мл раствора Рингера при раздутом посредством введения 60—100 мл воздуха в баллоне); 5-я порция — смыв с извлеченного из желудка баллона.

Мазки приготовляют из подозрительных комочков (скопления слизи и т. д.). Затем всем порциям дают отстояться 10—15 мин., осадок центрифугируют. Из центрифугата 2-й, 3-й и 5-й порций приготовляют 2—3 мазка. Центрифугат 4-й порции полностью используется для приготовления препаратов. Всего от каждого больного приготовляют 20—25 мазков. Мазки фиксируют смесью Никифорова в течение 20 мин., окрашивают гематоксилин-эозином, проводят через спирты, ксилол и заключают в бальзам. К достоинствам метода следует отнести возможность получения клеточного материала только со слизистой желудка, т. е. не загрязненного элементами из верхних отделов желудочно-кишечного тракта (4-я порция).

Наряду с описанными выше существуют также методы, при использовании которых извлечению клеточного материала из желудка предшествует введение в него протеолитических ферментов, в частности папаина (Rosental a. Traut, 1951) или α-химотрипсина (Rubin a. Benditt, 1955). Ферменты растворяют слизистый барьер желудка и разрыхляют слизистую оболочку, способствуя увеличению количества слущивающихся клеток. Последнее обстоятельство очень важно для успешного проведения цитологического анализа. Методы с применением протеолитических ферментов дают хорошие результаты, но они более трудоемки и могут дать осложнение в виде кровотечений.

При любом методе исследования количество клеток в гастроцитограмме (клеточная картина желудочного содержимого) здорового человека невелико, располагаются они поодиночке или небольшими группами (Papanicolaou, 1954; Schade, 1960). Методы эти следует рассматривать как дополнительные. Ценность их ограничивается тем, что суждение о структурных изменениях слизистой оболочки желудка основывается только на морфологии клеток поверхностного эпителия; лежащие глубже клеточные слои исследованию не подвергаются.

Достоинством цитологических методов является получение материала со всей слизистой желудка, что особенно важно в патологии.

Гастробиопсия. Биопсия, основанная на отсечении кусочка слизистой щипчиками, прикрепленными к гастроскопу (Kenamore, 1940, и мн. др.), ввиду довольно частых осложнений (кровотечения) не получила широкого распространения. В настоящее время чаще всего используется предложенный Вудом и др. (Wood a. oth., 1949) метод аспирационной биопсии. Многочисленные литературные данные (Henning u. and., 1960; Frick a. oth., 1961; Масевич, 1967, и мн. др.) свидетельствуют о том, что при хорошей технике выполнения аспирационная биопсия — метод практически безопасный. Противопоказано производить аспирационную биопсию при геморрагических диатезах любого происхождения, выраженной недостаточности кровообращения, портальной гипертензии.

Принципиально новым в технике аспирационной биопсии является засасывание ткани под действием отрицательного давления, создаваемого в биопсионной капсуле, с последующим отсечением ее биопсионным ножом. Существенное значение при этом имеет величина отверстия биопсионной капсулы, хронометрический и манометрический контроль.

Биопсионный зонд [11] вводится обследуемому натощак при рентгеноскопическом контроле положения зонда. Затем создается отрицательное давление и отсекается слизистая. После извлечения зонда полученный кусочек слизистой немедленно помещается в фиксатор, подбираемый в зависимости от целей исследования. Дальнейшая обработка материала при гистологическом и гистохимическом анализе проводится в соответствии с широко распространенными методами (Меркулов, 1956; Пирс, 1962, и др.). При необходимости биохимического анализа кусочек слизистой оболочки не фиксируется и до момента исследования содержится при температуре, близкой к нулю (период этот должен быть возможно короче).

В связи с распространением биопсионных методов исследования стала возможной разработка вопроса о ферментативном составе тканей желудка, что чрезвычайно интересно как с теоретической, так и с практической точек зрения. Одним из наиболее интересных является вопрос об активности пищеварительных, в частности протеолитических, ферментов слизистой желудка. При сравнительном анализе активности пепсина в гомогенате, приготовленном из кусочка слизистой определенного веса, и в смывах с этого же кусочка слизистой, производимых с целью десорбции пепсина с поверхности слизистой и между желудочными ямками, Ц. Г. Масевич получил следующие результаты: у здорового человека в 1 г гомогенизированной ткани содержится 40—

---

[11] В настоящее время применяются различные конструкции зондов (Tomenius, 1950; Henning, Heinkel, 1955; Канищев, 1964; Масевич, 1967, и мн. др.).

80 мг кристаллического пепсина; в первом смыве — 3—10 мг, во втором — 0—8 мг, в третьем — 0—5 мг.

Таким образом, ценность гастробиопсии заключается в том, что этот метод дает возможность повторного прижизненного морфологического исследования всех слоев слизистой оболочки желудка. Наряду с гистологическим анализом полученный с помощью гастробиопсии материал может быть использован также для гистохимического или биохимического исследования.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

По современным представлениям поджелудочная железа является продуцентом основных ферментов, участвующих в расщеплении всех групп питательных веществ (белков и пептидов, углеводов, жиров, нуклеиновых кислот). Кроме того, в панкреатическом соке обнаружены ферменты, расщепляющие фосфолипидные структуры клеточных мембран, что позволяет говорить еще об одной важной пищеварительной функции этого органа.

Подобно желудку, секреция поджелудочного сока происходит с помощью бинарного механизма: ацинарный аппарат осуществляет секрецию ферментов, центроацинозные и эпителиальные клетки проксимальных отрезков внутридольковых протоков — секрецию жидкой части поджелудочного сока, дистальные способны к реабсорбции.

На рис. 8 представлено схематическое изображение ультратонкой структуры ацинарной клетки поджелудочной железы. Предполагается, что синтез ферментов происходит в свободных рибосомах и шероховато-поверхностном ретикулуме. Вновь образованные ферменты затем переносятся на гладкие мембраны зимогенных гранул, стенка которых встраивается в клеточную мембрану, после чего содержимое их выбрасывается в полость (Hokin a. Hokin, 1962; Bockus, 1965).

Данные о величине внешней секреции, приводимые в литературе, различны. У человека за сутки выделяется около 1000—1500 мл поджелудочного сока, т. е. примерно 20—25 мл на 1 кг веса тела. Сок представляет собой бесцветную жидкость щелочной реакции, без запаха; изоосмотичен крови. Концентрация белка колеблется в широких пределах (от 0.1 до 10.0%), что зависит от количества секретируемых ацинарными клетками ферментов. При электрофоретическом анализе поджелудочного сока обнаружено по крайней мере 10 пиков, каждому из которых соответствует тот или иной фермент. Секреция поджелудочного сока у человека происходит постоянно, но может значительно

изменяться под влиянием нервных и гуморальных факторов (Busch, 1959; Bockus, 1965; Тульчинский, 1965; Горжейши, 1967).

Состав поджелудочного сока (уд. вес 1.007—1.009; рН 7.8—8.4)

Органические вещества 0.5—6.6%	Неорганические вещества 0.8—1.9%
Протеазы:	Бикарбонаты — 30—74 мэкв./л
трипсин	Cl^- — 35—97 »
химотрипсин	Na^+ — 34—142 »
пептидаза	K^+ — 4.7—5.4 »
коллагеназа	Ca^{++} — 1.0 »
эластаза	Co^{++} и другие — в незначительном количестве
Рибо- и дезоксирибонуклеаза	
Липаза	
Амилаза	
Мальтаза	
Холестеролэстераза	
Альбумины	
Глобулины	

Секреторная функция поджелудочной железы регулируется двумя механизмами: нервным и гуморальным. Нервная регуляция осуществляется в основном через веточки блуждающего нерва, гуморальная — с помощью секретина и панкреозимина, образующихся в слизистой тонкой кишки и стимулирующих секрецию поджелудочной железы гематогенным путем. При раздражении окончаний блуждающего нерва, а также при введении панкреозимина выделяется небольшое количество сока, богатого ферментами, а при действии секретина — обильное количество сока с высокой концентрацией бикарбонатов и низкой ферментативной активностью.



Рис. 8. Схематическое изображение ультратонкой структуры ацинарной клетки. (По: Bockus, 1965, рис. 121-5, стр. 882).

Функциональное состояние поджелудочной железы может быть охарактеризовано с помощью различных методов исследования. Наиболее важными для оценки внешнесекреторной функции поджелудочной железы являются методы исследования дуоденального содержимого, определение ферментов в крови и моче, а также балансовые пробы.

ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ ДУОДЕНАЛЬНОГО СОДЕРЖИМОГО

Характеристика функционального состояния поджелудочной железы в большинстве случаев связана с определением продуцируемых ею ферментов. Наиболее традиционным методом является изучение панкреатических ферментов в содержимом двенадцатиперстной кишки, получаемом с помощью дуоденального зонда. Однако при этом большей частью получают сок не в чистом виде, а смешанный с желудочным и кишечным соками, что затрудняет оценку результатов. Этих примесей можно в известной мере избе-

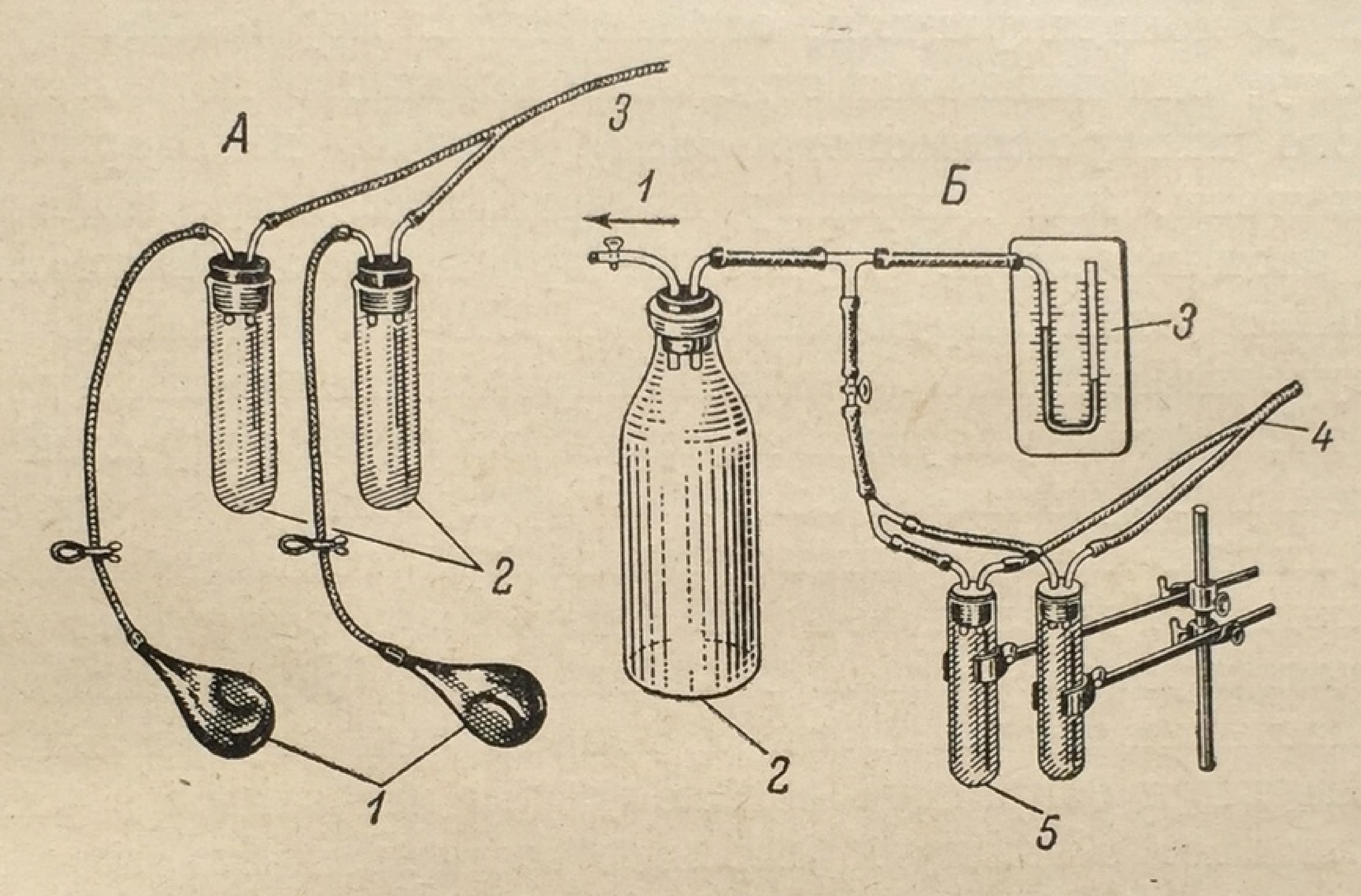


Рис. 9. Аппараты для одновременного получения желудочного и дуоденального содержимого двойным зондом с отсасыванием. (По: Закржевский, 1966, рис. 94, стр. 484).

А — с помощью резиновых груш: *1* — резиновая груша, *2* — пробирки, *3* — зонд. *Б* — с помощью насоса: *1* — насос, *2* — вакуумная бутыль, *3* — ртутный манометр, *4* — двойной зонд, *5* — пробирки для собирания желудочного и дуоденального содержимого.

жать применением двойного зонда, одно из отверстий которого находится в желудке, а другое — в двенадцатиперстной кишке (рис. 9). Таким образом можно удалить желудочный сок, однако желчь, дуоденальный сок и другие примеси остаются.

Существуют зонды и более сложного устройства, например зонд Бартельгеймера, снабженный двумя баллонами, при раздувании которых обтурируются привратник и кишка, что позволяет получать панкреатический сок в сравнительно чистом виде (Agren a. Lagerlöf, 1936; Lopez a. oth., 1950; Закржевский, 1961, 1966; Маждраков, 1961; Müller-Wieland, 1961; Hafter, 1962; Тодоров, 1963, 1966; Тульчинский, 1965; Глоуцал, 1967). Применение таких зондов кажется особенно целесообразным не только потому, что при этом предотвращается поступление желудочного содержимого в двенадцатиперстную кишку и, следовательно,

имеет место меньшее искажение, но также потому, что при таком методе удается осуществить комплексное исследование состояния системы желудок—поджелудочная железа—печень.

Среди методов, принятых для исследования функционального состояния поджелудочной железы, имеются такие, которые, во-первых, основаны на характеристике уровня спонтанной секреции (на фоне предварительного голодания), и, во-вторых, — на функциональных нагрузках пробными завтраками и различными натуральными и искусственными стимуляторами. К естественным стимуляторам поджелудочного сока относятся соляная кислота (в концентрациях, свойственных нормальному желудочному соку, она вызывает отделение большого количества весьма активного панкреатического сока), желчь, некоторые пищевые раздражители, как например нейтральный жир, молочные продукты, овощные соки, фруктовые органические кислоты и т. д.

Сильным стимулирующим эффектом на внешнюю секрецию поджелудочной железы обладает секретин, полипептид гормонального типа, с молекулярным весом около 5000, открытый в 1902 г. Бэйлисом и Старлингом. Секретин присутствует в верхней части тонкой кишки и выделяется в кровь при контакте соляной кислоты, а также других веществ (например, эфира) со слизистой двенадцатиперстной кишки. Секретин также обнаружен в антральной области желудка. Активен только при внутривенном введении. Инъекция секретина человеку или животным в равной степени вызывает обильную секрецию панкреатического сока с высокой концентрацией бикарбонатов и низкой ферментативной активностью. В настоящее время существует несколько фармакологических препаратов, содержащих чистый кристаллический секретин (Маждраков, 1961; Wirts, 1961; Dreiling a. Janowitz, 1962; Dreiling a. oth., 1964; Bockus, 1965; Закржевский, 1966).

Панкреозимин, активное вещество, выделенное из слизистой двенадцатиперстной кишки кошки в 1943 г. Харпером и Рейпером, вызывает секрецию поджелудочного сока, богатого ферментами, без сопутствующего уменьшения зимогенных гранул ацинарных клеток. Обнаружен также в антральной части желудка и в слизистой верхней части тонкой кишки. Жир и другие пищевые вещества при попадании в тонкую кишку вызывают освобождение панкреозимина вместе с холецистокинином в кровь (Закржевский, 1961, 1966; Palmer, 1963; Dreiling a. oth., 1964; Bockus, 1965; Шелагуров, 1967).

Из нефизиологических раздражителей, вызывающих значительную секрецию поджелудочного сока, следует упомянуть эфир и целый ряд фармакологических препаратов, действующих при парентеральном введении (физостигмин, мускарин, гистамин, холин, ацетилхолин, мехолил, урохолин и др.).

Для исследования внешней секреции поджелудочной железы наиболее распространены в практической деятельности следую-

щие пробы: с соляной кислотой, с овощными соками, с эфиром, а также комбинированный эфирно-мехолиловый тест.

В качестве примера опишем технику проведения пробы с соляной кислотой, являющейся более физиологической и обладающей секретинным механизмом действия.

После сбора в течение 30 мин. двух порций спонтанно отделяющегося дуоденального сока через зонд вводится 30 мл 0.5% соляной кислоты, подогретой до 37°; затем собирается сок через каждые 15 мин. в течение 1.0—1.5 часов. В норме ферментативная активность после введения соляной кислоты несколько снижается, но через 45—60 мин. возвращается к исходному уровню. При заболеваниях поджелудочной железы это снижение бывает более значительным, длится дольше и через час еще не возвращается к норме.

В то же время после введения соляной кислоты увеличивается количество отделяющегося сока, а также карбонатная щелочность. Однако, по мнению А. А. Шелагурова и Л. П. Воробьева (1967), исследование внешнесекреторной функции поджелудочной железы с помощью секретина, обладающего специфическим действием на нее, предпочтительнее, чем с 0.5%-м раствором соляной кислоты.

Описание других проб можно найти в руководствах Е. Б. Закржевского (1961), Г. М. Маждракова (1961), М. Тульчинского (1965) и др.

С большим успехом в качестве функционального теста используется тест с секретином или комбинированный секретин-панкреозиминовый тест. В этом случае имеет место избирательная стимуляция поджелудочной железы, почти не осложненная секрецией желудочного сока и желчи. Тем не менее все же при проведении теста рекомендуется опорожнить желчные пути 33%-м раствором сернокислой магнезии и пользоваться двойным зондом для получения дуоденального содержимого при одновременном откачивании желудочного сока. Существуют различные модификации проведения секретинового теста. Наиболее часто применяется следующий вариант (Dreiling a. Janowitz, 1956, 1962; Wirts, 1961; Закржевский, 1961, 1966; Christensen, 1963; Palmer, 1963; Тодоров, 1963, 1966). Натощак, не менее чем через 6—7 часов после приема пищи, в двенадцатиперстную кишку вводится двойной зонд. Положение его просматривается с помощью флюороскопа. После прохождения зонда в двенадцатиперстную кишку в течение 20 мин. собирается контрольное содержимое. Для анализа активности амилазы и липазы берется кровь, после чего внутривенно медленно вводится секретин из расчета 1 ед. на 1 кг веса тела. Дуоденальное содержимое собирают в течение 80 мин. отдельными порциями (2—10-минутные, 3—20-минутные пробы). В конце первого часа, а также в течение суток берется кровь для анализа активности ферментов. В дуоденальном содержимом определяют объем, кон-

5 Заказ № 1392

центрацию бикарбонатов и ферментативную активность (рис. 10, 11).

В норме суммарно за 80 мин.: 1) объем поджелудочного сока составляет 91—270 мл, или 1.3—4.3 мл на 1 кг веса тела; 2) концентрация бикарбонатов — 88—137 мэкв./л; 3) амилазная активность — 204—1621 ед. Сомоджи/час (Somogyi, 1938).

Так как единицы ферментативной активности не унифицированы и выражаются эмпирическими числами, то судить о повыше-

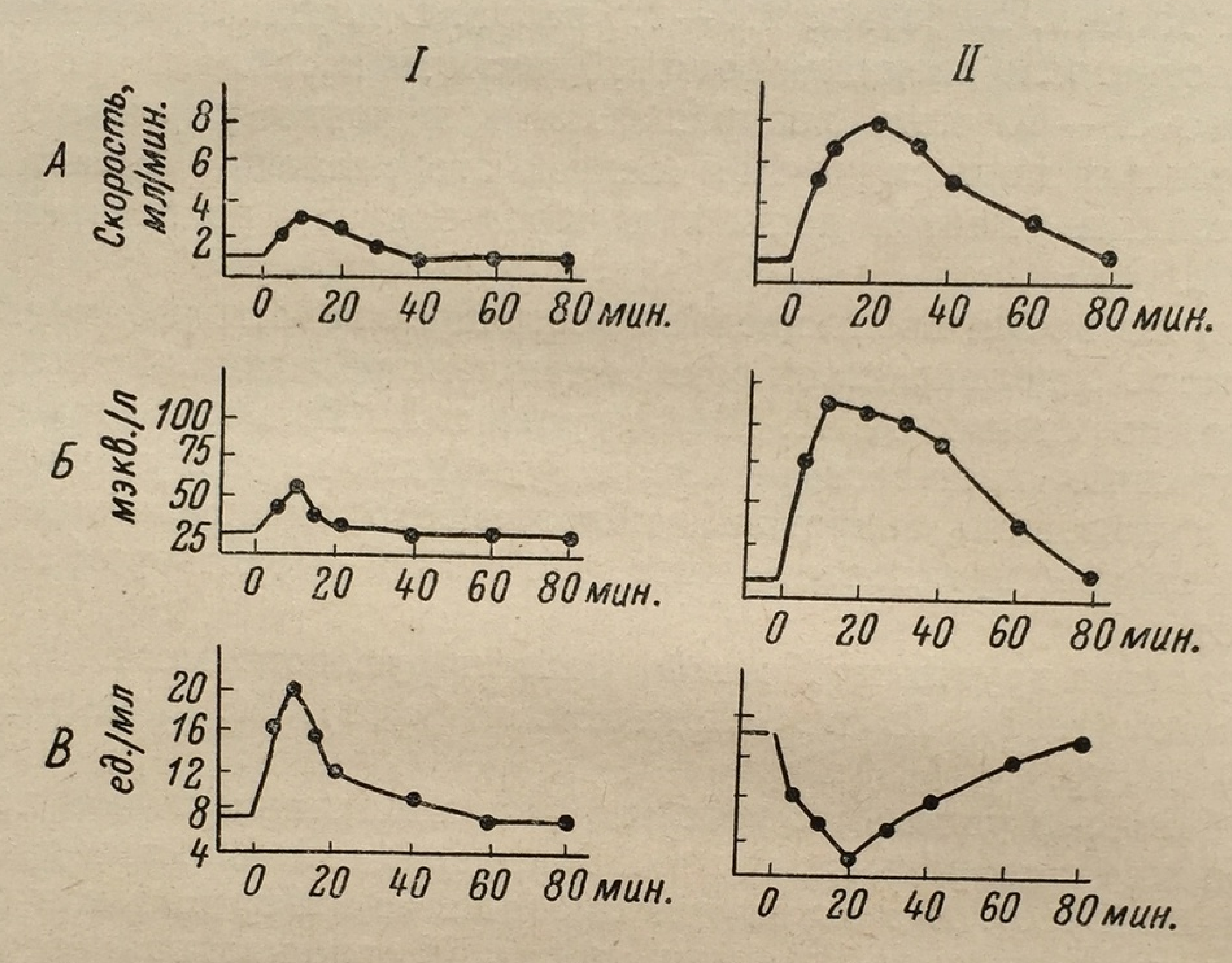


Рис. 10. Панкреатическая реакция, полученная при дренаже 12-перстной кишки у человека после введения панкреозимина (*I*) и секретина (*II*). (По: Bockus, 1965, рис. 123-2, стр. 908).

А — объем; *Б* — концентрация бикарбонатов; *В* — концентрация амилазы.

нии или уменьшении содержания ферментов после введения секретина можно лишь приблизительно — путем сравнения с данными, полученными при исследовании ферментативной активности спонтанно отделяющегося сока.

Секретиновый тест бесспорно имеет диагностическое значение. Уменьшение количества сока без особых изменений в содержании бикарбонатов и ферментов наблюдается чаще всего при закупорке или сдавлении основного выводного протока опухолями, кистами, сращениями. Уменьшение концентрации бикарбонатов на фоне снижения ферментативной активности при нормальных величинах количества секретируемого сока характерно для хронических воспалительных и дегенеративных заболеваний поджелудочной железы.

В начальных фазах острого панкреатита секретиновый тест не дает ценных результатов, наоборот, он может вызвать обострение заболевания.

В последнее время с диагностической целью находит применение панкреозимин с последующим анализом дуоденального содержимого (рис. 10, 11). Концентрация ферментов в дуоденальном содержимом после введения панкреозимина или стимуляторов типа панкреозимина (жир, мехолил) в норме колеблется

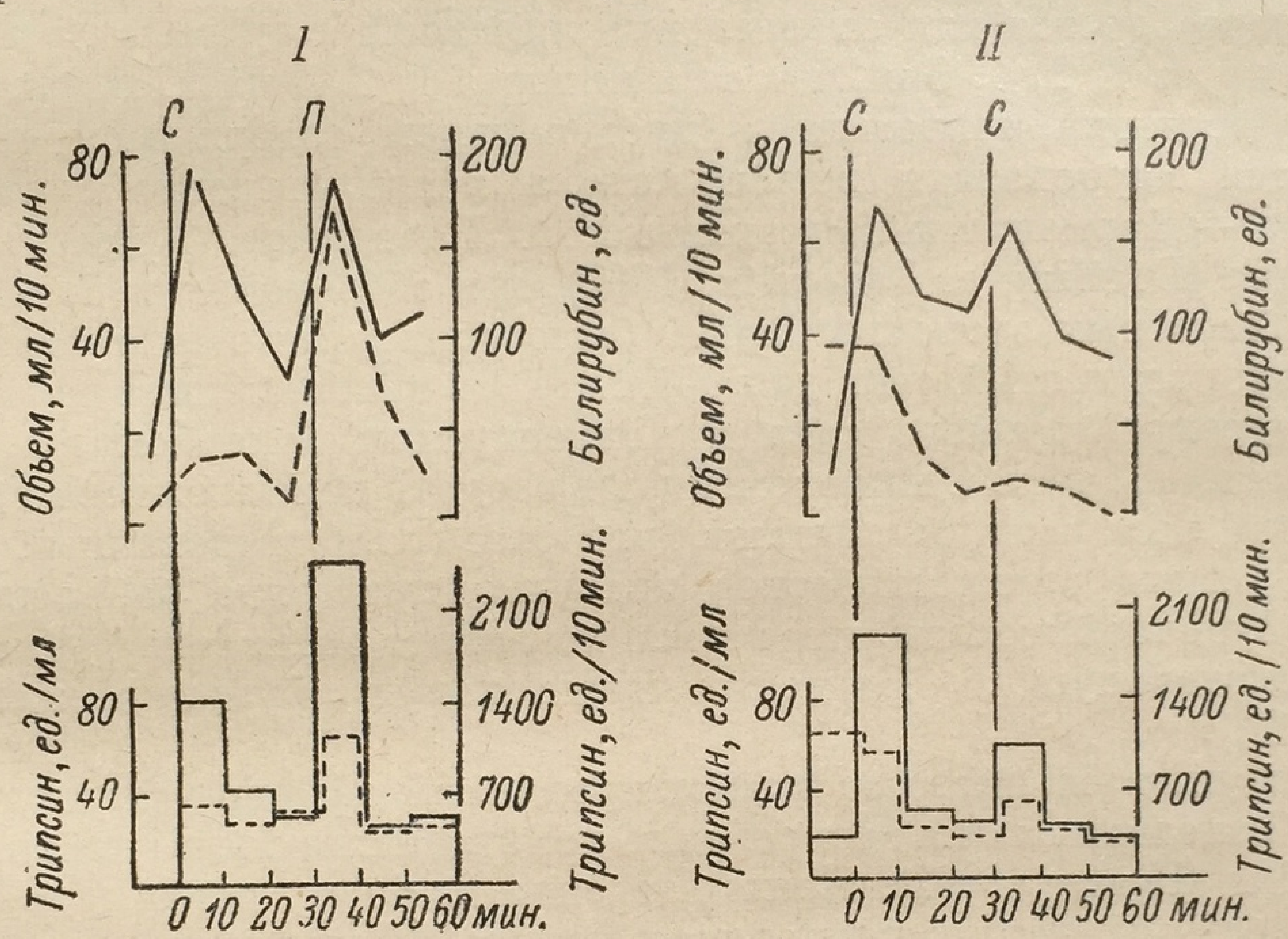


Рис. 11. Секретин-панкреозиминовый тест. Объем дуоденального содержимого, концентрация билирубина и трипсина в норме у 2 человек (*I*) в ответ на секретин, введенный через 30 мин. после панкреозимина, и в ответ на секретин, введенный через 30 мин. после инъекции такого же количества секретина (*II*). (По: Bockus, 1965, рис. 123-4, стр. 913).

П — панкреозимин; *С* — секретин.

в широких пределах. Поэтому в патологических условиях отклонения в активности каждого из ферментов могут быть незначительными. Среди больных хроническим панкреатитом снижение содержания амилазы наблюдалось только лишь у 14%, липазы — у 23.6%, а трипсина — у 29.5%. Наряду с этим при поражении поджелудочной железы весьма часто отмечаются явления диспанкреатизма, т. е. отсутствие параллелизма в содержании отдельных ферментов. Это проявляется в нормальном уровне одного фермента и увеличении или уменьшении других. Явления диспанкреатизма, помимо панкреатитов, наблюдаются также и при хронических гастритах, холециститах и язвенной болезни. В этих случаях нарушение ферментообразующей функции поджелудочной железы носит рефлекторный характер (Закржевский, 1966).

В практической деятельности чаще всего используется комбинированный секретин-панкреозиминовый тест (Sun a. Shay, 1957, 1960; Wirts, 1961; Dreiling a. Janowitz, 1962; Dreiling a. oth., 1964; Bockus, 1965; Шелагуров, 1967). 70 или 90 ед. панкреозимина разводятся в 10 мл физиологического раствора и вводятся внутривенно так же осторожно, как секретин, либо через 30 мин. после введения секретина, либо за 10 мин. до введения его. Дуоденальное содержимое собирается в течение 60 или 70 мин.

Кровь берется для определения липазной и амилазной активности через 1, 2, 4, 6 и 24 часа или через 1, 2, 4 часа. Нормально после введения секретина в дуоденальном содержимом увеличивается карбонатная щелочность, а после введения панкреозимина — ферментативная активность. По данным Драйлинга и Яновича (Dreiling a. Janowitz, 1962), при обследовании большого числа взрослых здоровых людей было обнаружено, что панкреозимин-секретиновый тест дает бо́льшую вариабильность по количеству секретируемого сока и концентрации бикарбонатов, чем секретиновый тест. Они рекомендуют вводить панкреозимин на килограмм веса тела и считают, что этот комбинированный тест может иметь диагностическое значение при ряде заболеваний поджелудочной железы, так как он позволяет оценивать ферментообразовательную и ферментовыделительную функции железы (рис. 11).

Заслуживает интереса комбинированный эфирно-мехолиловый тест, основанный на секретинно-панкреазиминовом механизме действия (Hafter, 1962). После введения двойного зонда в двенадцатиперстную кишку собираются четыре 15-минутные фракции, затем вводится через зонд 3 мл наркозного эфира и одновременно подкожно 10 мг мехолила, который повышает выделение ферментов, после чего опять собираются четыре фракции содержимого через 15 мин. В каждой фракции определяется количество секрета, pH, активность амилазы, концентрация бикарбонатов.

В норме наблюдаются следующие величины:

	В покое	После введения эфира	После введения мехолила
Количество, мл	15	60	30
pH	6.5	8.5	7.5
Амилаза,[1] ед.	25000	100000	110000

Показатели состава дуоденального содержимого, полученного за длительный срок (часы), без предварительного введения стимуляторов секреции, также имеют диагностическое значение для уточнения характера поражения поджелудочной железы (периодическая панкреатическая секреция). У больных с хроническим панкреатитом и холециститом с вовлечением в процесс

[1] Активность амилазы определялась по методу Смита и Роя (Smyth a. Roe, 1949).

поджелудочной железы наблюдается нарушение в правильности чередования периодов работы и покоя поджелудочной железы, в их продолжительности, в объеме секрета, его составе. В частности, при этих заболеваниях понижается липолитическая активность дуоденального содержимого (Northam a. oth., 1965; Тульчинский, 1965).

Основные недостатки всех методов, связанных с зондированием, заключаются в следующем: значительные неудобства при применении тонкого зонда; искажающее влияние самой процедуры зондирования; невозможность получения достаточно чистого панкреатического сока, так как последний, выделяясь, смешивается с желчью, желудочным и кишечным соками.

Тем не менее порционное определение поджелудочного сока в дуоденальном содержимом, в особенности активности ферментов, оказывается полезным при диагностике состояния поджелудочной железы ввиду следующих обстоятельств.

В норме существуют определенные соотношения между активностью амилолитических, протеолитических и липолитических ферментов. Показано, что при некоторых заболеваниях эти соотношения резко нарушены. В этом случае определение соотношений ферментов не зависит от различной степени разведения поджелудочного сока секретами других органов.

Далее, одним из характерных признаков нормального состояния поджелудочной железы является определенная динамика в выделении ферментов. Соотношение одного или двух ферментов в разных порциях дуоденального содержимого позволяет обнаружить астению секреторного аппарата, состояние раздражения и т. д.

Все большее применение получают методы изучения поджелудочной железы, не связанные с использованием процедуры зондирования. Они базируются на двух приемах: 1) на изучении динамики всасывания тех веществ, гидролиз которых обусловлен ферментами поджелудочной железы; 2) на определении ферментов поджелудочной железы в крови и в моче. Вполне понятно, что первая группа методов может использоваться лишь тогда, когда на основании применения других тестов показано, что всасывание гидролизованной пищи происходит без значительных нарушений. Этот вопрос будет рассмотрен подробнее в следующем разделе, когда мы коснемся одновременно методов изучения всасывания.

ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ФЕРМЕНТОВ В КРОВИ

В настоящее время показано, что в нормальных условиях некоторая часть всех панкреатических ферментов инкретируется в кровь, что делает возможным проводить исследование соотно-

шения ферментов и до некоторой степени состояния поджелудочной железы не прибегая к процедуре зондирования.

Для характеристики состояния поджелудочной железы на основании определения ферментов крови важно иметь в виду следующие обстоятельства.

1. Ферменты крови и мочи лишь в очень небольшой степени отражают уровень секреции в данный момент. Эти показатели скорее характеризуют средний уровень работы за более длительные интервалы (в несколько часов). Этот факт представляет некоторое удобство, так как избавляет врача от случайных колебаний уровня ферментативной активности, связанных, например, с сокращением протоков, действием кратковременных возбуждающих и тормозящих факторов, поступлением большого количества желудочного содержимого и т. д.

2. Соотношение между количеством ферментов, поступающих в протоки и в кровь, не является постоянным. В частности, уровень инкреции относительно возрастает при затруднении оттока поджелудочного сока в двенадцатиперстную кишку независимо от этиологии, при повышении проницаемости мембран ацинарного аппарата. Это уже чисто теоретически позволяет ожидать повышения уровня панкреатических ферментов в крови и моче при большинстве острых заболеваний поджелудочной железы. Действительно, при разнообразных формах острого панкреатита наблюдается резкое повышение уровня панкреатических ферментов в крови и моче (трипсиногена, липазы, различных пептидаз, амилазы). Определение каждого из этих ферментов, по-видимому, имеет одинаковую диагностическую ценность. Ряд авторов, однако, считает, что данные, касающиеся лейцинаминопептидазы в сомнительных случаях дают результаты более однозначные, чем по другим ферментам. Практически же чаще всего используется определение уровня амилазы (в устаревшей терминологии — диастазы) вследствие высокой активности и специфичности этого фермента.

Рассмотрим более подробно целесообразность применения различных методов определения амилазы. Сразу же следует заметить, что метод Вольгемута безусловно устарел и его использование (все еще широко распространенное) не оправдано. Применяемые в настоящее время методы основываются либо на определении скорости гидролиза крахмала по приросту редуцирующих сахаров (Энгельгардт и Герчук, 1926; Somogyi, 1938; Nelson, 1944, и т. д.), либо на определении скорости этого процесса по убыли исходного субстрата (Smyth a. Roe, 1949). В первом случае активность обозначается как сахарифицирующая, во втором — как декстринирующая.

В качестве примера сахарифицирующих методов приводим наиболее широко распространенный метод Сомоджи (Somogyi, 1960).

Определение амилолитической активности методом Сомоджи

Принцип метода основан на образовании редуцирующих сахаров при гидролизе крахмала, количество которых определяется колориметрически после восстановления щелочного медного раствора.

Реактивы. 1. 1.5%-й водный раствор крахмала. Готовится растворением 1.5 г растворимого крахмала примерно в 80—90 мл дистиллированной воды с последующим кипячением в течение 1 мин. Затем раствор охлаждается и объем доводится до 100 мл. Устойчив в течение 3 дней.

2. 1.0%-й раствор хлористого натрия. 2.5 г соли растворяются в 240 мл дистиллированной воды, после чего добавляется 0.75 мл 0.1 н. соляной кислоты и общий объем доводится до 250 мл водой. Устойчив в течение 6 месяцев.

3. 6.0%-й раствор вольфрамовокислого натрия. Можно пользоваться приготовленным раствором в течение 6 месяцев.

4. 5.0%-й раствор сернокислой меди. Устойчив длительное время.

Ход определения.

Реактивы	Опыт	Контроль	Стандарт
Раствор крахмала, мл	5	—	5
NaCl, мл	2	2	2
Инкубация, мин. . . .	10	—	10
H_2O, мл	—	5	1
Сыворотка, мл	1	1	—
Инкубация	30 мин. при 40° или 35 мин. при 38°	—	30 мин. при 40° или 35 мин. при 38°
$CuSO_4$, мл	1	1	1
Na_2WO_4 мл	1	1	1

Фильтрование.

Для определения концентрации образующейся глюкозы под влиянием амилазы крови используется 2 мл фильтрата. Из опытных данных вычитаются показания контрольного и стандартного растворов, а затем рассчитывается количество глюкозы, которое образуется под влиянием амилазы в 100 мл крови, что служит условным выражением амилотитической активности.

В норме у человека в сыворотке крови содержится около 80—100 ед. Сомоджи на 100 мл, причем указанная концентрация относительно постоянна у одного и того же человека.

Если амилаза не определяется непосредственно после взятия крови, то пробы необходимо сохранять в холодильнике при температуре 8°. При хранении проб в условиях комнатной температуры амилолитическая активность возрастает. Гемолиз также ведет к увеличению активности амилазы.

Несмотря на то, что первая группа методов пользуется наибольшим распространением, она должна быть признана наименее адекватной, так как скорость гидролиза олигосахаридов амилазой очень невелика и, следовательно, заметные отклонения от нормы могут быть получены лишь при очень резких изменениях концентрации амилазы. Кинетическая характеристика амилазы такова, что теоретически наиболее подходящими кажутся методы изучения декстринирующей активности.

Это было проверено в нашей лаборатории совместно с клиникой хирургии ГИДУВа доктором В. М. Мериной-Глускиной. Действительно, как видно из рис. 12, 13, декстринирующие методы являются значительно более чувствительными, чем сахарифицирующие. На основе метода Смита и Роя (Smyth a. Roe, 1949) нами был разработан метод, позволяющий довольно просто определять уровень амилазы в крови и моче (Мерина-Глускина, 1965).

Определение активности амилазы в крови

Реактивы. 1. 0.15%-й раствор крахмала. Для его приготовления к 0.15 г растворимого крахмала добавляют некоторое количество дистиллированной воды, доводят до кипения и доливают до 100 мл дистиллированной водой. Раствор готовят через день.

2. Буферный раствор (pH 7.15—7.2). К 11.876 г Na_2HPO_4 добавляют дистиллированную воду, доводя объем до 1 л. Кроме того, к 9.078 г KH_2PO_4 доливают дистиллированную воду также до 1 л. Эти два раствора могут сохраняться в холодильнике до 10 дней. Перед исследованием готовят рабочий буферный раствор из трех частей раствора KH_2PO_4 и семи частей Na_2HPO_4.

3. Иодный реактив. 0.3 г кристаллического иода и 3 г иодистого калия растворяют в дистиллированной воде и доливают до 100 мл. Из этого иодного реактива готовят рабочий раствор, доливая к 2 мл его 6 мл дистиллированной воды.

Ход определения. К 5 мл 5%-го раствора NaCl, находящегося в центрифужной пробирке, добавляют 0.1 мл крови, взятой из пальца. Добавление 5%-го раствора NaCl приводит к удалению при центрифугировании всех форменных элементов крови; кроме того, этот прием способствует предотвращению свертывания крови. Центрифугирование проводят в течение 7—10 мин. при 2000 об./мин. К 2 мл 0.15%-го раствора крахмала добавляют 2 мл буферного раствора и 1 мл центрифугата. Смесь подвергают инкубации в водяной бане при 38° в течение 60 мин. Затем для прекращения реакции наливают 2 мл 1 н. раствора HCl, 8 мл дистиллированной воды и по 0.5 мл разведенного иодного реактива. Для контроля берут те же реактивы, но вместо центрифугата (плазмы) добавляют 1 мл дистиллированной воды. В предварительных исследованиях было показано, что замена 1 мл центри-

Рис. 12. Активность амилазы крови людей (сахарифицирующий метод).

I — в норме; *II* — при панкреатитах. *Точками* показаны отдельные наблюдения.

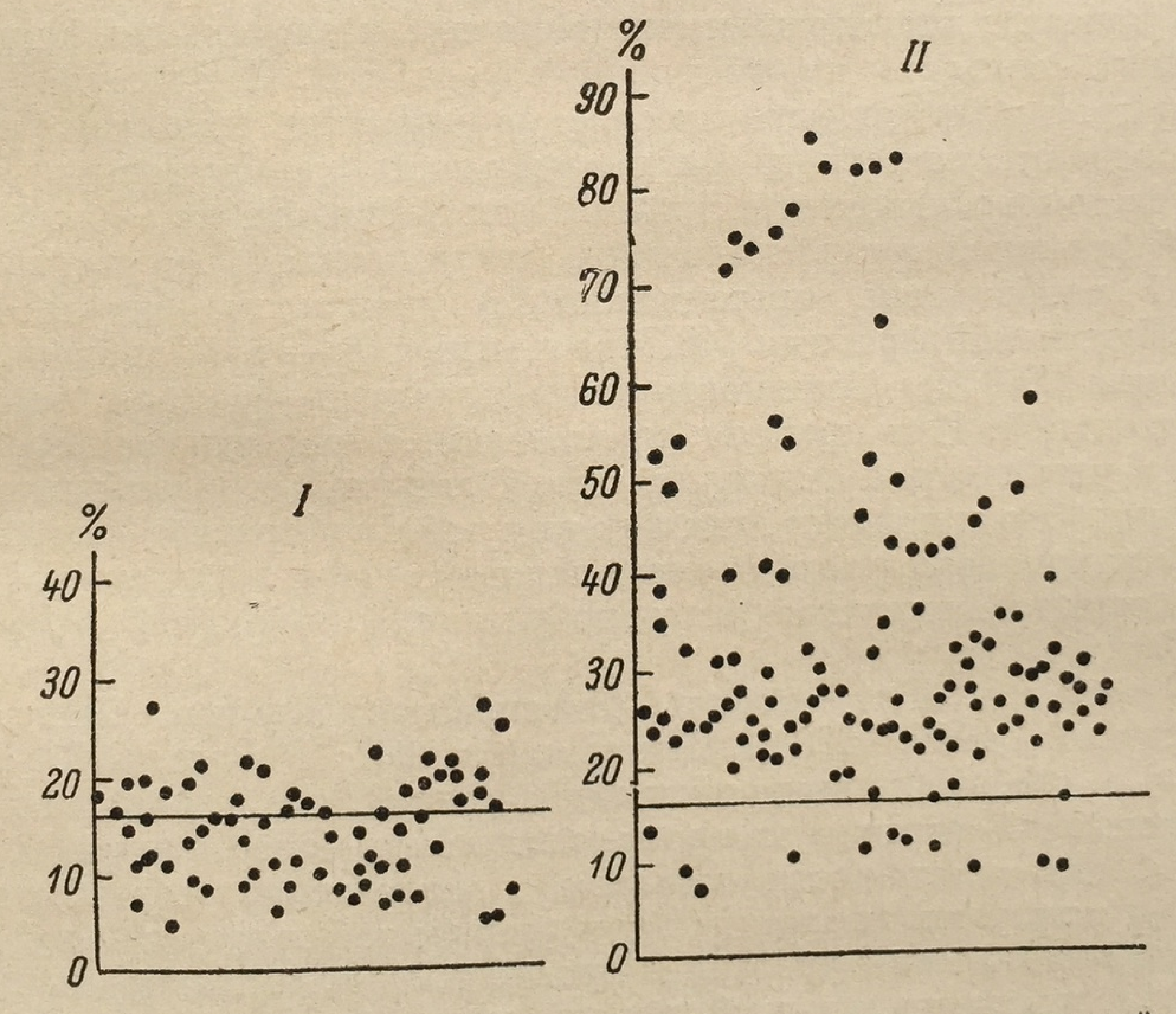


Рис. 13. Активность амилазы крови людей (декстринирующий метод).

Обозначения те же, что на рис. 12.

фугата 1 мл дистиллированной воды не влияет на оптическую плотность раствора.

Растворы колориметрируют в фотоэлектроколориметре при красном светофильтре против дистиллированной воды, в кюветах с 5 мм между рабочими гранями, и полученные результаты сравнивают с показателями контроля, принимаемого за 100.

Расчет производится в процентах расщепления крахмала.

Пример расчета

1-й показатель фотоэлектроколориметра — оптическая плотность исследуемого раствора, равная 0.35; 2-й показатель фотоэлектроколориметра — оптическая плотность контрольного раствора, равная 0.85.

Согласно пропорции

$$0.85 - 100\%$$

$$0.35 - X,$$

$x = \frac{35}{0.85} = 41.2\%$. Такое количество крахмала осталось негидролизованным в пробирке. Следовательно, гидролизовалось амилазой 100—41.2=58.8% (при средней норме 15.1%, с возможными колебаниями от 10 до 20%).

В качестве диагностического теста для исследования функционального состояния поджелудочной железы В. П. Тихонов (1964) предлагает электрофоретическое определение амилазы крови на основании известного факта, что некоторые ферменты не являются гомогенными, т. е. их активность связана не с одной белковой фракцией, а с несколькими. Автор показал, что у здоровых людей наибольшая амилолитическая активность определяется в альбуминовой фракции (48.7%) и меньшая — в γ-глобулиновой фракции (29.6%). Активность амилазы других фракций была незначительной. Как правило, хронические панкреатиты сопровождались увеличением амилолитической активности γ-глобулиновой фракции. Это и понятно, так как при электрофоретическом исследовании показано, что в норме у человека поджелудочная изоамилаза идентифицируется с γ-глобулиновой фракцией (Bockus, 1965).

Липаза. Ряд авторов (Scherrick a. Huerga, 1961; Закржевский, 1961, 1966; Маждраков, 1961; Palmer, 1963; Northman a. oth., 1965) придерживается мнения, что определение липолитической активности крови может быть более полезным, чем определение активности амилазы в диагностике острых и подострых панкреатитов, так как для липазы наблюдается более длительно повышенный уровень в крови, чем для амилазы (рис. 14). Активность поджелудочной липазы может быть определена с помощью ряда методов, принцип которых основан на ее способности расщеплять эфиры жирных кислот с освобождением свободных жирных кислот. Большинство методов определения липазы в сыворотке отличается используемым субстратом (оливковое масло,

твин-20, трибутирин, фенил-бензоат и др.). Чаще всего в качестве субстрата используется оливковое масло. Величина гидролиза определяется титрованием освобожденных жирных кислот стандартным раствором щелочи с использованием того или иного индикатора (Comfort, 1937; Henry a. oth., 1957; Natelson, 1961; Boutwell, 1961; Тодоров, 1963; Bockus, 1965).

Липолитическая активность в сыворотке сохраняется при комнатной температуре в течение недели. Гемолизированную сыворотку использовать для исследования не рекомендуется.

По мнению вышеуказанных авторов, сыворотка здоровых взрослых людей содержит от 0 до 1.3 ед. липазной активности (единица

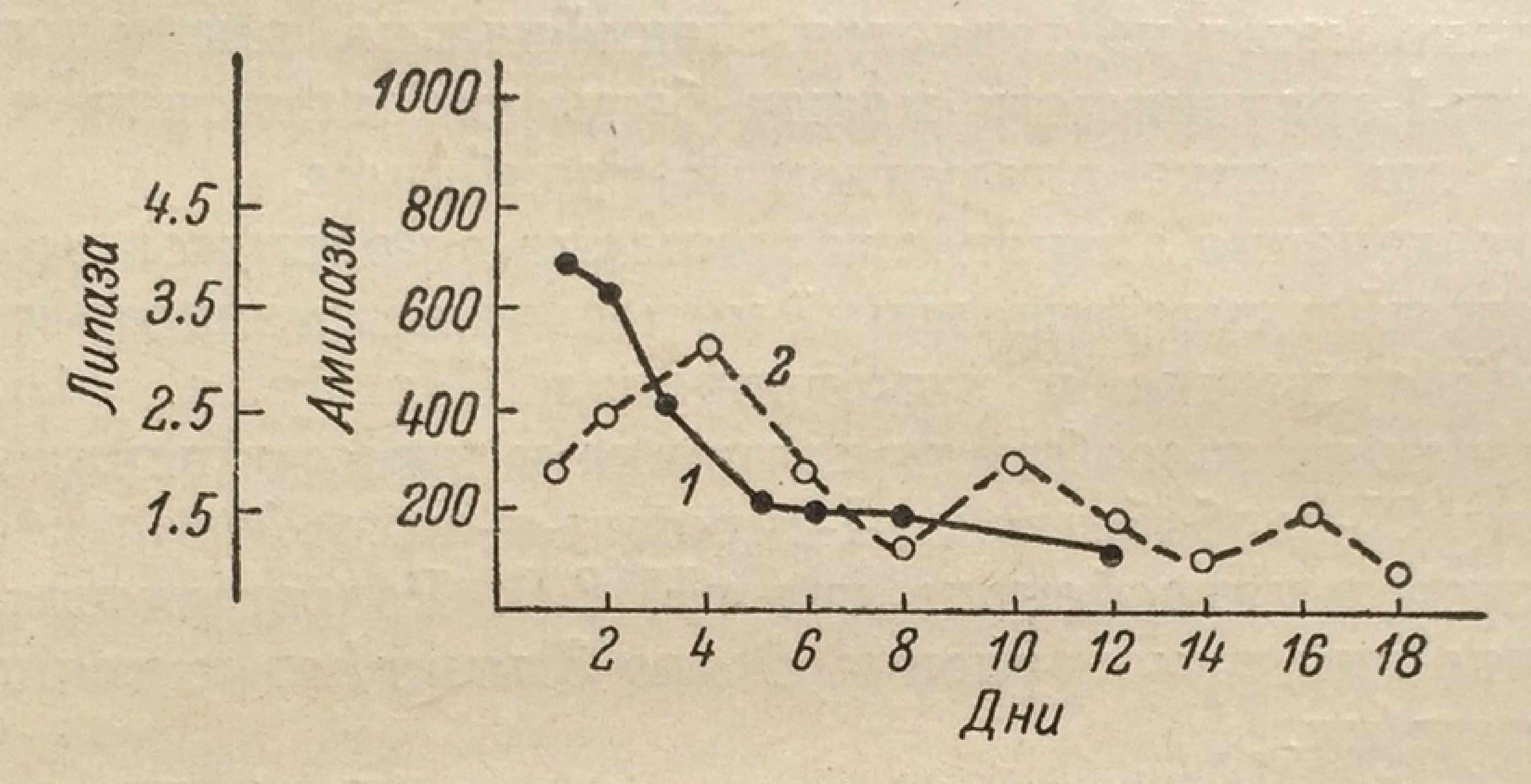


Рис. 14. Кривая концентраций сывороточной амилазы (*1*) и липазы (*2*) в течение острого панкреатита (9 больных). (По: Bockus, 1965, рис. 123-1, стр. 899).

соответствует числу миллилитров 0.05 н. NaOH, необходимого для нейтрализации продуктов гидролиза в результате действия 1 мл сыворотки на 2 мл 50%-й эмульсии субстрата). Величины выше 1.5 характерны для патологических состояний.

Лейцинаминопептидаза. Как было уже отмечено выше, при заболеваниях поджелудочной железы имеет место значительное изменение активности лейцинаминопептидазы. В связи с этим можно рекомендовать в клиническую практику определение этого фермента (Huerga a. Scherrik, 1961). Применяется метод Грина и др. (Green a. oth., 1955) в модификации Гольдберга и др. (Goldbarg a. oth., 1958, 1959; Boutwell, 1961).

Принцип метода заключается в следующем. Субстрат лейцил-β-нафтиламид гидролизуется ферментом до лейцина и β-нафтиламина, который диазотируется ($NaNO_2 + HNO_2$). Образующиеся диазодериваты связываются с N-1-нафтил-этилендиамином, в результате чего появляется голубая окраска, которая определяется фотометрически.

Трипсин. При поражениях поджелудочной железы может иметь место значительное изменение активности трипсина. Однако неспецифичность большинства субстратов, на которые

фермент действует, присутствие различных ингибиторов и других протеолитических ферментов в сыворотке крови, таких, как плазмин и тромбин, очень затрудняет его определение, а также использование этого теста для диагностики заболеваний поджелудочной железы.

В 1958 г. Нарди был предложен метод, который основан на реакции гидролиза солянокислого α-бензоил-l-аргининамида под влиянием трипсина сыворотки крови; при этом образуется бензоил-l-аргинин и аммиак. Последний оттитровывается раствором соляной кислоты (в чашках Конвея), по количеству которой судят об активности трипсина (Nardi, 1958; Закржевский, 1961; Bockus, 1965). Однако метод не является специфичным, так как показано, что бензоил-l-аргининамид может быть гидролизован не только трипсином, но также плазмином и тромбином.

Для определения активности трипсина в крови можно рекомендовать быстрый и чувствительный метод одновременного измерения активностей трипсина и химотрипсина (Martin a. oth., 1958). Метод основан на способности трипсина и химотрипсина гидролизовать эфир N-карбобензокси-l-тирозин-п-нитрофенол с освобождением ионов п-нитрофенола при pH 8.0. Разрешающая способность метода для химотрипсина около 3 ммкг/мл и для трипсина около 7 ммкг/мл.

Кроме того, можно рекомендовать и метод В. А. Шатерникова, представляющего модификацию метода Эрленджера (Erlanger, цит. по: Шелагуров, 1967). Принцип его основан на способности трипсина расщеплять синтетический субстрат бензоил-dl-аргининпаранитроанилид с образованием бензоил-dl-аргинина и окрашенного в желтый цвет паранитроанилина, количество которого определяется спектрофотометрически при длине волны 410 ммк.

Часто об изменении активности трипсина судят с помощью антитромбинового теста, предложенного в 1950 г. Иннерфильдом и др. (Innerfield a. oth., 1950). Сущность метода заключается в определении времени свертывания дефибринированной плазмы, к которой в равных частях прибавляют определенное количество стандартного раствора тромбина и приготовленного из свежей плазмы здорового человека фибриногена. Антитромбиновым титром называют время, в течение которого дефибринированная плазма нейтрализует известное количество тромбина.

При заболеваниях поджелудочной железы время образования сгустка может значительно удлиниться, что зависит от присутствия антитромбинового фактора, увеличение содержания которого косвенно свидетельствует о повышении количества трипсина крови.

Несмотря на недостаточную теоретическую обоснованность, эта проба оказалась не лишенной диагностической ценности. Она бывает положительной при остром панкреатите, обострении хронического панкреатита, реже при раке поджелудочной железы. При остром панкреатите тест сохраняется положительным более

продолжительное время, чем гиперамилаземия, и может быть, следовательно, использован для диагностики в позднем периоде заболевания. Тест, однако, не специфичен (Закржевский, 1966).

Диагностическое значение при заболеваниях поджелудочной железы имеет определение трипсин-тормозящей способности сыворотки. Трудность в определении абсолютных величин трипсин-тормозящего эффекта возникает из-за недостатка подходящих стандартов для определения активности трипсина.

Существуют следующие методы для определения трипсин-тормозящего эффекта сыворотки на трипсин:

1. Спектрофотометрический метод Кунитца (Kunitz, 1947) и его модификация (Банд, Фенд, цит. по: Закржевский, 1961) с использованием более концентрированного субстрата казеина.

У здоровых взрослых людей тормозящий эффект сыворотки был определен порядка 1.03 мг трипсина, тормозимого 1 мл сыворотки.

2. Ципф и др. (Zipf a. oth., 1961) предложили более простой и в то же время более чувствительный и точный метод для определения трипсин-тормозящего эффекта сыворотки. Метод основан на использовании казеина, меченного J^{131}. Нормальные величины, полученные при использовании этого метода, были в среднем 0.87 мг трипсина на 1 мл сыворотки.

У больных во всех случаях поражения поджелудочной железы (панкреатиты, новообразования) наблюдалось увеличение трипсин-тормозящего эффекта сыворотки на трипсин в 1.5—2 раза.

Дезоксирибонуклеаза. Специфическим тестом для диагностики острых воспалительных заболеваний поджелудочной железы является определение в сыворотке крови активности дезоксирибонуклеазы I и II. Специфична только дезоксирибонуклеаза I, так как она обнаружена в ткани поджелудочной железы и ее секрете. Оптимум действия проявляется при pH 7.2 в присутствии ионов Mg^{++}. Получена в кристаллическом виде. Дезоксирибонуклеаза II присутствует в различных тканях с высокой митотической активностью, pH — оптимум 5.2. Активна в отсутствие ионов Mg^{++}.

При обследовании больных с различными заболеваниями поджелудочной железы Каулессер и Мак-Эвой (Kowlessar, McEvoy, 1956) установили, что повышение активности дезоксирибонуклеазы I в крови наступает лишь при остром геморрагическом панкреатите, т. е. при наличии острого некроза ткани поджелудочной железы. Дезоксирибонуклеазный тест является более специфичным в диагностике острых панкреатитов, чем тест амилазы или липазы, но менее чувствительным. Однако методическая трудоемкость дезоксирибонуклеазного теста и недостаток чувствительности лимитируют клиническое применение его при заболеваниях поджелудочной железы.

Существует ряд методов для определения активности дезоксирибонуклеазы сыворотки крови (Bockus, 1965; Тульчинский, 1965; Подильчак, 1967). Принцип методов основан на деполимеризующем эффекте дезоксирибонуклеазы на дезоксирибонуклеиновую кислоту.

Лецитиназа. Циве и Фогель (Zieve a. Vogel, цит. по: Bockus, 1965) описали метод определения лецитиназы А, панкреатического фермента, который превращает лецитин до лизолецитина и кефалин до лизокефалина с освбождением жирных кислот. Фермент содержится в ткани поджелудочной железы человека в большей концентрации, чем амилаза или липаза. У больных с острым панкреатитом наблюдается повышение уровня лецитиназы А параллельно с увеличенным уровнем сывороточной амилазы и липазы. Другие заболевания не сопровождаются подъемом уровня лецитиназы А. Следует отметить, что метод определения активности лецитиназы А является трудоемким и малочувствительным, что лимитирует его клиническое применение.

ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ФЕРМЕНТОВ В МОЧЕ

Концентрация амилазы в моче, так же как и других ферментов, значительно выше, чем в крови, поэтому, как правило, требуется предварительное разведение мочи. Вместе с тем необходимо отметить, что определение амилазы в разовых порциях мочи, как это постоянно делается в хирургических клиниках, теоретически не обосновано, и в этом случае концентрация фермента зависит не столько от уровня ее инкреции поджелудочной железой, сколько от реабсорбционной функции почек, которая при панкреатитах может быть существенно нарушена. Так же как и при определении уровня инкреции гормонов, нам представляется наиболее целесообразным изучение амилазы в суточном количестве мочи. На это указывают также Саксон (Saxon a. oth., 1957), А. А. Шелагуров (1967) и др.

Определение активности амилазы в моче (Глускина, 1966)

Реактивы те же, что для определения амилазы в крови, но при приготовлении рабочего раствора буфера (pH 7.2) к 100 мл его добавляется 250 мг чистого хлористого натрия.

Ход определения. К 2 мл рабочего буферного раствора добавляется 2 мл 0.15%-го раствора крахмала и 1 мл профильтрованной разведенной в 40 раз мочи.

Смесь инкубируется в водяной бане в течение 20 мин. при температуре 38°. После извлечения из водяной бани добавляют по 2 мл 1 н. раствора соляной кислоты и по 8 мл ледяной дистил-

лированной воды; затем — 0.5 мл раствора Люголя. Контроль — те же растворы, но вместо 1 мл мочи берут 1 мл дистиллированной воды. Колориметрируют при красном светофильтре. Расчет производится так же, как и для определения активности амилазы в крови, и выражается в процентах расщепленного крахмала.

В последнее время особое внимание уделяется исследованию уровня липазы в моче. Нотман и др. (Nothman a. oth., 1965) установили, что ее уровень меняется при поражениях поджелудочной железы. При острых панкреатитах наблюдается гиперлипазурия, а при раке поджелудочной железы и фиброзе — гиполипазурия.

Определение в моче трипсина не нашло практического применения.

Как было отмечено выше, интенсивность инкреции определяется проницаемостью клеточных мембран, состоянием оттока поджелудочного сока и концентрацией ферментов в паренхиме поджелудочной железы. Ясно, что при хронических заболеваниях этого органа, а также при очень резких нарушениях процессов синтеза ферментов в поджелудочной железе увеличение инкреции панкреатических ферментов в кровь происходить не будет. Эти группы заболеваний с трудом поддаются диагностике прямыми методами. Здесь наиболее целесообразно изучение свойств синтезируемых ферментов и ферментативного спектра крови, т. е. соотношение разных панкреатических ферментов между собой.

Помимо статического определения содержания ферментов в крови и моче, в последнее время применяются методы исследования ферментативной активности после введения стимуляторов внешней секреции поджелудочной железы. Эти пробы целесообразно проводить в тех случаях, когда при обычных методах исследования имеют место нечеткие результаты. Усиленная секреция поджелудочного сока после введения стимуляторов может увеличить поступление ферментов в кровь и мочу. В качестве стимуляторов применяется секретин, различные ваготропные препараты (простигмин, урохолин, мехолил и др.). Из этих провокационных тестов сохраняет значение один из самых ранних — простигминовый тест, основанный на наблюдении, что у здоровых лиц после введения простигмина (1 мл подкожно) уровень амилазы в крови не изменяется, а при поражении поджелудочной железы он либо повышается, либо понижается (Закржевский, 1961; Hafter, 1962; Dreiling a. oth., 1964; Шелагуров, 1967).

БАЛАНСОВЫЕ ПРОБЫ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ФУНКЦИИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

В настоящее время имеется много тестов, помогающих косвенно судить о недостаточности пищеварительной функции поджелудочной железы, так называемые балансовые пробы. Для проведения этих проб больным дают определенную пищу, а затем

в крови, моче, испражнениях определяют продукты ее ферментативного гидролиза.

Крахмальный тест. Рекомендован Альтхаузеном и Уеямой (Althausen a. Uyeyama, 1954). Основан на принципе сравнения гликемических кривых после приема внутрь 100 г растворимого крахмала и такого же количества глюкозы. В случае нормальной функции поджелудочной железы обе кривые сходны друг с другом. При недостаточности амилолитического расщепления крахмала гликемическая кривая в отличие от кривой после введения глюкозы будет более пологой. Техника пробы состоит в следующем. Утром натощак у больного определяется сахар крови. Затем ему дают 100 г растворимого крахмала, после чего определяется уровень глюкозы через 30, 60, 120 и 180 мин. Накануне или на следующий день повторяется тест с глюкозой. Сравнивают полученные кривые, и разницу в содержании сахара крови выражают в процентах.

Клементи (Clementi, 1958) предложил для оценки теста специальные показатели. По его данным крахмальный тест является отрицательным, если $\frac{г}{к} < 2$, где г — максимальное содержание сахара в крови после введения глюкозы, а к — то же после введения крахмала; тест считается положительным, если этот коэффициент > 2.

По мнению А. Н. Митропольского (1963), крахмальный тест является чувствительным тестом для определения амилолитической функции поджелудочной железы, в то же время Е. Б. Закржевский (1961, 1966) на основании собственных наблюдений отмечает, что тест не является специфичным для поражений поджелудочной железы.

Тест на перевариваемость белков, меченных радиоактивным изотопом иода (J^{131}). Разработан Чином с соавторами (Chinn a. oth., 1952). По мнению Яновича (Janowitz, 1963), тест не заслуживает большого внимания, хотя в некоторых случаях и полезен. Принцип теста заключается в том, что после введения альбумина, меченного J^{131}, наибольшая концентрация в крови в норме наблюдается через 2—3 часа; при поражениях поджелудочной железы кривая растянута во времени.

Тест проводится следующим образом. Предварительно производится блокирование щитовидной железы дачей раствора Люголя, чтобы в ней не фиксировался радиоактивный изотоп иода. После 12-часового голодания дают завтрак из чистого желатина (0.5 г на 1 кг веса тела), содержащий 100 мккюри J^{131}. Исследуется кровь (через каждый час в течение 4 часов), моча и кал, собранные в течение 72 часов, методом сцинтилляции. По литературным данным, у здоровых людей с мочой выводится от 60 до 90% J^{131} и 0.5—4.8% с калом. При недостаточности поджелудочной железы с мочой

выводится 20.5—55.8%, а с калом 24.4—63.8% (Закржевский, 1961; Маждраков, 1961; Palmer, 1963).

Желатиновый тест. Состоит в исследовании аминокислот в крови через 30 мин., 1, 2, 3 и 4 часа после нагрузки желатином (1.3 г на 1 кг веса тела). В норме количество аминокислот натощак равно 4—8 мг%; через 30 мин. после нагрузки оно увеличивается до 5.5—10%; через 2—3 часа достигает 14—18 мг% и через 4 часа спускается до нормальных величин. При функциональной недостаточности поджелудочной железы подъем уровня аминокислот бывает менее выраженным и через час после нагрузки не превышает 2—5 мг% (Тульчинский, 1965).

Плазмоглициновый тест. Исследуемому дают желатин из расчета 1.5 г на 1 кг веса, до и после нагрузки определяют содержание в крови глицина. У здоровых людей количество его возрастает в 2.5—5 раз. При функциональных нарушениях поджелудочной железы такого увеличения глицина не наблюдается.

Тесты на перевариваемость жиров. Наиболее широко распространенными являются тест с липоидолом и радиоактивный триолеиновый тест. Проба с липоидолом проста, не требует взятия крови. Больной утром, натощак, принимает капсулы с иодированным жиром, содержащим определенное количество иода. В течение суток собирается моча, в которой определяется содержание иода. В норме в этот отрезок времени выделяется от 55 до 60% введенного иода. При нарушениях функции поджелудочной железы выведенный иод составляет менее 55% от введенного (Закржевский, 1961; Маждраков, 1961; Palmer, 1963; Dreiling a. oth., 1964).

Радиоактивный триолеиновый тест специфичен не только для нарушений внешнесекреторной функции поджелудочной железы. Предварительно необходимо блокирование щитовидной железы раствором Люголя. Вводится триолеин, меченный J^{131}, из расчета 1 мккюри на 1 кг веса тела или же оливковое масло, меченное J^{131}. Затем исследуются кровь, моча и кал. Максимальная концентрация радиоактивного иода в крови наблюдается через 4—6 часов после введения пробного завтрака; большая его часть выделяется с мочой и только 1—2% — с калом (Polachek a. oth., 1959; Закржевский, 1961). Однако следует отметить, что результаты, получаемые после применения различных пищевых нагрузок, не являются специфичными для суждения о функциональной недостаточности поджелудочной железы, так как могут зависеть от многих факторов и приобретают значение только тогда, когда сочетаются с общей клинической картиной заболевания и данными других лабораторных исследований. Общим недостатком этих двух тестов является то, что они не только специфичны для поражений поджелудочной железы, но характеризуют состояние пищеварительного процесса в целом.

6 Заказ № 1392

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПЕЧЕНИ И ЖЕЛЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ

Физиологическая роль печени очень важна и разнообразна. Печень является одним из самых важных органов, принимающих участие в обмене веществ. Едва ли существует какая-либо функция в человеческом организме, прямо или косвенно не связанная с печенью.

Из многочисленных функций, характеризующих деятельность печени, остановимся только на желчеобразовательной и экскреторной, имеющих непосредственное отношение к работе пищеварительного тракта. О других, не менее важных функциях можно подробно узнать в ряде специальных руководств (Бондарь, 1965; Тульчинский, 1965; Тодоров, 1966; Горшкова, Курцин, 1967, и др.).

Образование и выделение желчи — одна из важнейших функций печени. За сутки выделяется около 0.7—1.5 л, т. е. в среднем 10—15 мл на 1 кг веса тела. С желчью выделяется примерно около 40% твердых веществ, выводимых из организма. Выделение желчи непрерывно. Оно зависит от гуморальной и нервной регуляции и колеблется в суточном ритме печеночной деятельности, увеличиваясь в особенности после еды.

Приведем состав желчи (Markoff u. Kaiser, 1962):

Общий состав желчи

	Печеночная желчь	Пузырная желчь
Цвет	Золотисто-желтый, золотисто-оранжевый	Коричнево-черный, коричнево-зеленый
Количество в сутки, мл	700—1200	
Удельный вес	1.008—1.016	1.008—1.059
pH	5.7—8.6	6.1—8.6
Вода, %	97—98	84
Желчные кислоты, %	1.24—1.72	2.3—7.7
Холевая кислота, %	0.39—0.63	1.2—3.3
Дезоксихолевая кислота, %	0.85—0.88	1.1—4.3
Желчные соли, %	0.5—1.8	1.5—9.7

	Печеночная желчь	Пузырная желчь
Билирубин, мг %	17—71	50—1000
Холестерин, мг %	86—176	100—900
Муцин, %	—	1—4
Протеины, мг %	180	450
Жирные кислоты, мг%	100.7—437.9	2400
Лецитин, мг %	250	350
Углеводы, мг %	61	239
Основания, мэкв./л	80—90	280—300
Бикарбонаты, мэкв./л	20—25	8—12
Кальций, мг %	8—11	50—56
Хлориды, мэкв./л	90—100	16—19
Фосфор, мг %	6—23.6	140

ДУОДЕНАЛЬНОЕ ЗОНДИРОВАНИЕ

Основными методами изучения пищеварительных функций желчи до последнего времени остаются методы, связанные с зондированием на фоне различных функциональных нагрузок и введением тестируемых препаратов.

Дуоденальное зондирование характеризует состояние желчного пузыря, печени, поджелудочной железы (в особенности экскреторную функцию) и двенадцатиперстной кишки. Однако в этом разделе мы коснемся характеристики дуоденального зондирования по отношению к функциональному состоянию печени и желчевыводящих путей. Следует заметить, что сама процедура зондирования является небезразличной для обследуемого, поэтому в ряде случаев предпочтительны рентгеновские методы и методы, основанные на анализе крови.

С помощью исследования дуоденального содержимого удается уточнить наличие и характер патологических процессов, происходящих в первую очередь в желчевыводящей системе. Поэтому основным показанием к проведению дуоденального зондирования являются заболевания системы желчевыделения (холециститы, холангиты).

В качестве раздражителей, вызывающих сокращение желчного пузыря и расслабление сфинктера Одди, используются следующие вещества: 33%-й раствор сернокислой магнезии, 10%-й раствор пептона, оливковое (прованское) масло, яичные желтки, 40%-й раствор глюкозы, 10%-й раствор хлористого натрия, 25—35%-й раствор сока черной редьки, инъекции питуитрина, холецистокинина, гипофизина, атропина и др. С этой же целью проводится фарадизация диафрагмального нерва на шее (Rouiller, 1964; Bockus 1965; Тульчинский, 1965; Глоуцал, 1967).

Парэнтеральное введение веществ, вызывающих желчевыделение при зондировании, обладает тем преимуществом, что дуоденальный сок, представляющий смесь желчи с панкреатическим и кишечным секретами, не смешивается с вводимыми через зонд

веществами. Однако большинство авторов считает вполне рациональным использование для биохимических анализов желчи, получаемой после введения раздражителей через зонд. Показано, что желчь, добываемая дуоденальным зондом накануне операции, и желчь, получаемая у того же больного при операции, мало отличаются друг от друга (Петровский, 1947).

После введения дуоденального зонда олива достигает двенадцатиперстной кишки, как правило, через 50—60 мин., в чем можно убедиться по слабощелочной реакции дуоденального содержимого, по его прозрачности, золотистой окраске и свободному истечению желчи. Это так называемая порция А. Она может быть значительно светлее при нарушениях билирубиновыделительной функции печени (эпидемический гепатит Боткина, циррозы печени, алиментарная дистрофия) и быть бесцветной, представляя практически лишь секрет слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и поджелудочной железы при закупорке общего желчного протока (опухоль, желчнокаменная болезнь). В последнем случае необходимо дополнительное рентгенологическое подтверждение месторасположения зонда именно в двенадцатиперстной кишке.

Количество желчи порции А колеблется в весьма широких пределах и практически зависит от длительности пребывания зонда в двенадцатиперстной кишке до введения раздражителя, ведущего к сокращению желчного пузыря и появлению порции В, а также от интенсивности секреции поджелудочного сока в момент зондирования. Содержание билирубина в порции А (при определении по методу Ван ден Берга) составляет 20—25 мг %. При механической желтухе, а также при эпидемическом гепатите и циррозах печени количество билирубина может быть ниже, оно повышается при гемолитической желтухе.

Наличие в порции А значительного количества слизи, мути, хлопьев говорит с большей долей вероятности о воспалительном процессе в двенадцатиперстной кишке (дуодените). Для подтверждения диагноза дуоденита определенное значение придается увеличению количества лейкоцитов в порции А, свыше 5—10 в поле зрения (Губергриц, 1963). Следует иметь в виду, что увеличение количества лейкоцитов в порции А может быть связано также с попаданием их в двенадцатиперстную кишку из желудка (при анацидных состояниях), а также и из желчных ходов. Наряду с этим благодаря значительной протеолитической активности дуоденального содержимого лейкоциты могут быстро исчезать из желчи при ее стоянии. Все это дает основание подходить к оценке увеличенного количества лейкоцитов как к одному из признаков хронического дуоденита с осторожностью. Мы наблюдали также лейкопедез при исследовании слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки, используя метод аспирационной биопсии, в некоторых случаях и при отсутствии морфологических признаков хронического дуоденита. Нужно считать диагноз хрони-

ческого или острого воспаления слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки только тогда достоверным, когда последний подтверждается морфологическими исследованиями с использованием метода биопсии.

После получения порции А через зонд вводится один из вышеуказанных раздражителей, вызывающих пузырный рефлекс, который у здоровых людей наступает через 5—25 мин. В течение 20—60 мин. вытекает концентрированная пузырная желчь темно-оливкового цвета. Это так называемая порция В. В ответ на введение раздражителя в среднем выделяется 50—60 мл ее.

Увеличение объема порции В может сочетаться с растяжением желчного пузыря, его дискенитическими расстройствами; уменьшение говорит об уменьшении емкости пузыря. Появление воспалительных элементов в пузырной желчи (мути, хлопьев, большого количества лейкоцитов) дает основание предположить наличие холецистита. Следует согласиться с точкой зрения А. В. Смирнова (1966), что при постановке диагноза хронического холецистита результаты исследования дуоденального содержимого следует оценивать с осмотрительностью и только в соответствии с клиническими данными. Само по себе наличие увеличенного числа лейкоцитов в порции В еще не является достаточным доказательством воспалительных изменений, также как нормальное количество лейкоцитов при наличии других проявлений холецистита не может служить основанием для отрицания наличия этого заболевания.

Концентрация билирубина в желчи порции В в 10—20 раз превышает ее в порции А, составляя 200—400 мг% (по Ван ден Бергу). Уменьшение концентрации билирубина и желчных кислот в пузырной желчи может быть следствием воспаления желчного пузыря или связано с нарушением желчеобразования. Уменьшение концентрации билирубина сопровождается и снижением удельного веса желчи.

Существенное значение имеет отношение показателей концентрации желчных кислот к концентрации холестерина в желчи порции В. Снижение этого отношения (холато-холестеринового коэффициента) ниже 13 способствует выпадению холестерина из раствора и образованию вследствие этого камней в желчном пузыре. При калькулезном холецистите низкий холато-холестериновый коэффициент встречался в два раза чаще, чем при бескаменных.

После опорожнения порции В появляется светлая печеночная желчь — порция С. Эта желчь имеет золотисто-желтый цвет, прозрачна. Степень окраски желчи С зависит от интенсивности секреции печенью билирубина. Поэтому более светлый цвет ее сочетается с уменьшением билирубиновыделительной функции печени (эпидемический гепатит, циррозы печени), а более темный — с гемолитической желтухой.

Наличие в печеночной желчи большого количества слизи, лейкоцитов, эпителиальных клеток, помутнение ее может говорить о холангите — воспалительном процессе внутрипеченочных желчных ходов. Но и здесь диагноз хронического холангита при наличии указанной патологии со стороны порции С только тогда может считаться достоверным, если имеются и соответствующие клинические проявления.

Таким образом, получение фракций А и С свидетельствует о проходимости внутрипеченочных желчных путей, фракции В — о сохранении концентрационной и двигательной функциях желчного пузыря (Саратиков, 1962; Маслова, 1963; Тодоров, 1963; Шелагуров, 1964; Rouiller, 1964; Bockus, 1965; Глоуцал, 1967).

Лабораторный анализ желчи включает следующее: 1) исследование общих свойств (прозрачность, цвет, реакция); 2) химический анализ; 3) микроскопическое исследование; 4) бактериологический анализ.

При проведении химических исследований особенно большое значение имеет определение в желчи желчных кислот, хлоридов, фосфолипидов, билирубина, холестерина. Значительная концентрация хлоридов во фракции В является показателем нарушения резорбтивной функции желчного пузыря; изменение содержания желчных кислот, билирубина, фосфолипидов свидетельствует о нарушении самой паренхимы печени.

ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ НЕКОТОРЫХ КОМПОНЕНТОВ В ЖЕЛЧИ, КРОВИ И МОЧЕ

Определение желчных кислот

В желчи людей в форме гликохолевых кислот находится около 80% всех желчных кислот, в форме таурохолевых — около 20%. При некоторых поражениях печени способность ее клеток образовывать парные желчные кислоты может значительно нарушаться, при этом в желчи заметно увеличивается содержание свободных желчных кислот. Уменьшение их содержания в желчи является одной из основных причин выпадения из раствора холестерина и солей кальция и образования желчных камней.

Велика роль желчных кислот в переваривании и всасывании жиров. Они облегчают расщепление жиров, с одной стороны, активируя липазу, а с другой — обеспечивая для липазы за счет эмульгирования более обширную поверхность воздействия. Соли желчных кислот участвуют в процессе всасывания жирных кислот благодаря их гидротропному действию, т. е. способности образовывать растворимые в воде комплексы с жирными кислотами (Саратиков, 1962; Danielsson, 1963; Rouiller, 1964; Bockus, 1965).

Количество желчных кислот в порции В значительно больше, чем в порции А. Их содержание уменьшается при эпидемическом гепатите Боткина, у больных с хроническим холециститом. При гемолитической желтухе общее количество желчных кислот в дуоденальном содержимом (в порции В) обычно не изменяется, но меняется отношение между концентрациями гликохолевой и таурохолевой кислот в пользу последней (Губергриц, 1960, 1963).

Существует много методов (табл. 1) для определения желчных кислот (Карбач, 1962; Van Itallie a. Hashim, 1963).

Таблица 1

Сводка различных методов определения желчных кислот, предложенных авторами с 1924 по 1960 г. (Карбач, 1962)

Авторы	Год	Количество желчных кислот (мг%)	Метод
Герцфельд и Гаммери	1924	Отсутствуют	Пт
Розенталь и Вислицки	1926	»	гм
Олдридж и Блидзо	1928	3.1—5.1	Пт
Харле	1929	2.08—4.54	Пт
Таширо	1929	80—100	фл
Енке и Штейнберг	1930	2.0—0.1	Пт
Шульман и Шаубе	1932	0.1—0.5	Пт
Шаброль, Шарони и Коттет	1934	Отсутствуют	фв
Джозефсон	1935	0.6—2.5	Пт
Минибек	1938	Отсутствуют	фл
Енке	1939	»	фф
Таннгаузер	1942	0.3—0.5	Пт
Ирвин, Джонстон и Копалла	1944	0.2—0.6	Пт
Кир	1952	35—42	уф
Корански и Тиле	1955	2.5—3.5	уф
Висоцки, Порлан и Манн	1955	7.7—14.0	уф
Кери	1956	1.0—2.2	уф
Мете, Дейс и Вартер	1957	2.6—4.0	уф
Радман и Кендалл	1957	Отсутствуют	уф
Финько	1957	0.5—1.0	фл
Вартер и Мете	1959	28.0—29.0	фл
Осборн и Вуттон	1959	1.0	фл
Шюльце и Штирнская	1960	3.3	уф

Примечание. Пт — реакция Петтенкофера: фф — реакция с фосфорной кислотой и фурфуролом; гм — газометрический метод; уф — по абсорбции растворов желчных кислот в серной кислоте, исследуемых в ультрафиолетовой части спектра; фл — реакция флюоресценции; фв — реакция с фосфорной кислотой и ванилином.

Как видно из таблицы, данные, полученные различными методами, весьма противоречивы. Не удивительно, что нет единого мнения о концентрации желчных кислот в крови и желчи.

На основании изучения этих методов Я. И. Карбач (1962) разработал и предложил новый фотометрический метод для опре-

деления общего количества желчных кислот в крови и желчи по реакции Петтенкофера. Ниже приводится описание этого метода.

Определение желчных кислот в крови

Желчные кислоты экстрагируются из сыворотки крови 6-кратным объемом 96°-го этилового спирта на кипящей водяной бане, что обеспечивает полное извлечение желчных кислот из исследуемого материала. Жирные кислоты и желчные пигменты осаждаются гидроокоисью бария. При этом желчные кислоты в виде бариевых солей переходят в раствор. Осадок отделяется центрифугированием. Часть оставшихся липоидов и другие эфирорастворимые вещества из надосадочной жидкости извлекаются эфиром. Водная фаза, содержащая жирные кислоты, подкисляется соляной кислотой, после чего они экстрагируются изоамиловым или н-бутиловым спиртом.

При содержании желчных пигментов в крови выше 5 мг% проводилась дополнительная очистка от них на хроматографической колонке из крахмала. Однако полной очистки достичь не всегда удается.

Точность метода равна 96.6 ± 1.5 до $101.0 \pm 0.5\%$, в зависимости от различных желчных кислот, добавляемых к сыворотке крови в количествах от 2.0 до 7.5 мг%.

Максимальная чувствительность реакции Петтенкофера к желчным кислотам была достигнута при проведении этой реакции с 67-%й серной кислотой, раствором фруктозы в концентрации не менее 0.9% и нагревании реакционной смеси в течение 15 мин. при температуре 60°. При этом определяется до 1 мкг холевой кислоты в 5 мл исследуемой жидкости. Холевая, таурохолевая и гликолевая кислоты дают специфически максимальное поглощение света при 580 ммк, а дезоксихолевая — при 520 ммк.

Определение желчных кислот в желчи

Профильтрованная через вату пузырная желчь разбавляется в 9-кратном объеме 96°-го этилового спирта. Смесь нагревается в течение 1 мин. на кипящей водяной бане для осаждения белков, после чего центрифугируется. 0.1—0.2 мл охлажденного центрифугата прибавляется к 1—1.5 мл 96°-го этилового спирта, и для осаждения жирных кислот и пигментов добавляется раствор гидроокиси бария. Центрифугирование повторяется. В этом центрифугате осаждается избыток гидроокиси бария сернокислым аммонием, после чего смесь снова центрифугируют. Центрифугат сливается в пробирку, а осадок промывается спиртом. После центрифугирования надосадочная жидкость объединяется с первым

центрифугатом. Жидкость выпаривается. С сухим остатком проводится реакция Петтенкофера.

Точность метода при добавлении желчных кислот 98±1.0 и 100.9±1.3%.

Для раздельного определения отдельных желчных кислот в настоящее время разработаны хроматографические методы. Однако существующие различные модификации хроматографического определения желчных кислот очень сложны, требуют дефицитных реактивов, занимают много времени, что существенно тормозит широкое внедрение их в клиническую практику для массовых исследований.

Я. И. Карбач (1962) разработал новый хроматографический анализ раздельного определения желчных кислот в сыворотке крови и желчи, который может быть проведен в течение 1—3 часов в зависимости от сорта хроматографической бумаги.

Метод. Хроматография восходящая. Растворители для холевой и дезоксихолевой кислот: смесь из толуола, 85%-й муравьиной кислоты, ледяной уксусной кислоты и метилового спирта в отношении 6 : 0.1 : 0.25 : 0.3; для таурохолевой или гликохолевой — смесь из дихлорэтана, 85%-й муравьиной кислоты, ледяной уксусной кислоты и метилового спирта в отношении 5 : 0.8 : 0.5 : 0.4. После разгонки бумажные полоски сушатся 15—20 мин. при 80—90°, затем опрыскиваются хлороформенным раствором 3-хлористой сурьмы и сушатся 5 мин. при 90—95°. Местонахождение пятен желчных кислот определяется в ультрафиолетовом свете.

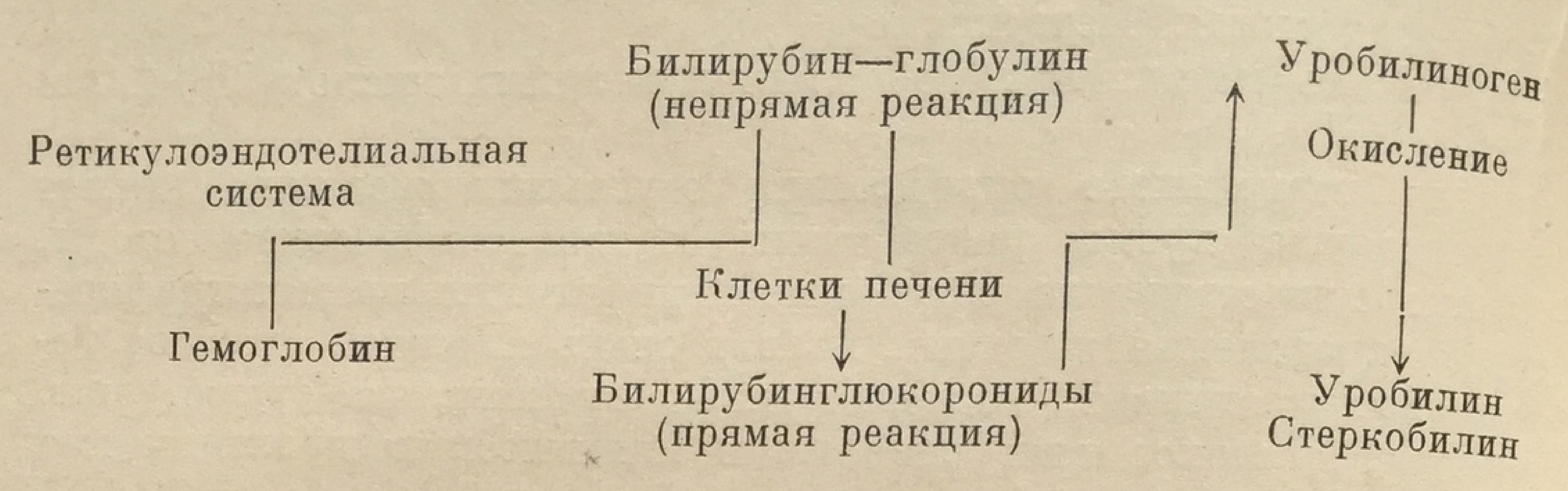
Определение билирубина в желчи и в крови

Показатели исследования продуктов пигментного обмена в крови, моче, желчи служат как для установления функционального состояния печени, так и для уточнения характера желтухи (механическая, паренхиматозная, гемолитическая).

Значительные колебания нормального содержания билирубина в желчи в широких пределах (от 100 до 400—800 мг%) снижают ценность и практичность его определения. С диагностической целью более подходящим является определение билирубина в крови, позволяющее судить о состоянии пигментного обмена. Билирубин — желто-красный пигмент, образующийся в клетках ретикулоэндотелиальной системы из гемоглобина. При расщеплении 1 г гемоглобина образуется 34 мг билирубина. В норме у людей ежедневно выход билирубина составляет около 300 мг (Schachter, 1959). В печень транспортируется через плазму. Ниже представлено схематическое изображение этого процесса.

Природа прямого и непрямого билирубина, определение которых имеет важное клиническое значение в дифференциальной диагностике различных типов желтух, установлена независимо друг от друга исследованиями Биллинга (Billing, 1955), Тала-

Обмен желчных пигментов (Maclagan, 1963)



фанта (Talafant, 1956), Шмида (Schmid, 1956). Непрямой (свободный) билирубин плохо растворим в воде, чем и объясняется его трудная, «непрямая» реакция с диазореактивом, открытая в 1916 г. Ванд ден Бергом. Хорошо растворим в хлороформе и других органических растворителях, а также в жирах и др. При соединении свободного билирубина в печеночных клетках с глюкуроновой кислотой образуется хорошо растворимый в воде билирубиндиглюкоронид (~70%), так называемый пигмент II и билирубинмоноглюкоронид (~30%), или пигмент I, дающие быструю (прямую) реакцию с диазореактивом (Hoffmann, 1963; Тодоров, 1963, 1966; Шварцман, 1964; Bockus, 1965). «Активированная» глюкуроновая кислота при действии фермента глюкоронидтрансферазы (глюкоронидазы), присутствующей в микросомной фракции печени, отщепляется от уридинфосфатглюкуроновой кислоты (УФГК) (промежуточный продукт обмена углеводов) и присоединяется к билирубину.

Схематически это представляется следующим образом:

1. Билирубин + 2УФГК $\xrightarrow[\text{трансфераза}]{\text{глюкоронид}}$ билирубиндиглюкоронид + + 2УФК (уридинфосфорная кислота);

2. Билирубин + УФГК $\xrightarrow[\text{трансфераза}]{\text{глюкоронид}}$ билирубинмоноглюкоронид + УФК.

Синтез УФГК осуществляется в митохондриях, а билирубинглюкоронидов в аппарате Гольджи печеночных клеток (рис. 15). Связывание с глюкуроновой кислотой билирубина (а также и других веществ: гормоны, лекарственные вещества) — важный биологический процесс, когда вещества переводятся в растворимую форму и экскретируются из организма (рис. 16, 17). У взрослых здоровых людей содержание общего билирубина в сыворотке крови колеблется от 0.5 до 1.2 мг%, причем 75% его составляет непрямой билирубин, который не может проходить через печеночные клетки. После связывания с глюкуроновой кислотой образующийся прямой билирубин легко проходит через печеночные клетки, благодаря чему и осуществляется его экскреция.

Существуют качественные и количественные методы определения билирубина и его фракций. Однако качественные методы (непрямая и прямая реакция Ван ден Берга) неточны, и лучше ими не пользоваться.

Из многочисленных методов количественного определения (Boutwell, 1961; Тодоров, 1963, 1966; Bockus, 1965) в сыворотке крови наиболее точными являются колориметрические методы, основанные на реакции Ван ден Берга, и особенно прямые спектрофотометрические методы. Из колориметрических методов в настоящее время наиболее широкое распространение имеют методы Маллоя и Эвелина (Malloy a. Ewelyn, 1937) и особенно метод Иендрашика и др. (Jendrassik u. Grof, 1938a). Спектрофометрические методы определения общего билирубина основаны на том, что он дает характерную зону абсорбции при 450—460 ммк. Разведенная $^{1}/_{15}$ М фосфатным буфером при pH 7.4 сыворотка крови спектрофотометрируется при 455 ммк. Для поправки на гемоглобин проводится определение при 575 ммк (White a. oth., 1958; Meites a. Hogg, 1960; Jackson, 1961).

Рис. 15. Схематическое изображение печеночной клетки на основании электронномикроскопичес - ких исследований. (По: Markoff u. Kaiser, 1962, рис. 15, стр. 24).

1 — микроворсинки; 2 — эндоплазматическая сеть; 3 — митохондрия; 4 — лизосомы; 5 — ядро; 6 — купферовская клетка; 7 — пространство Диссе; 8— внутриклеточные желчные канальцы.

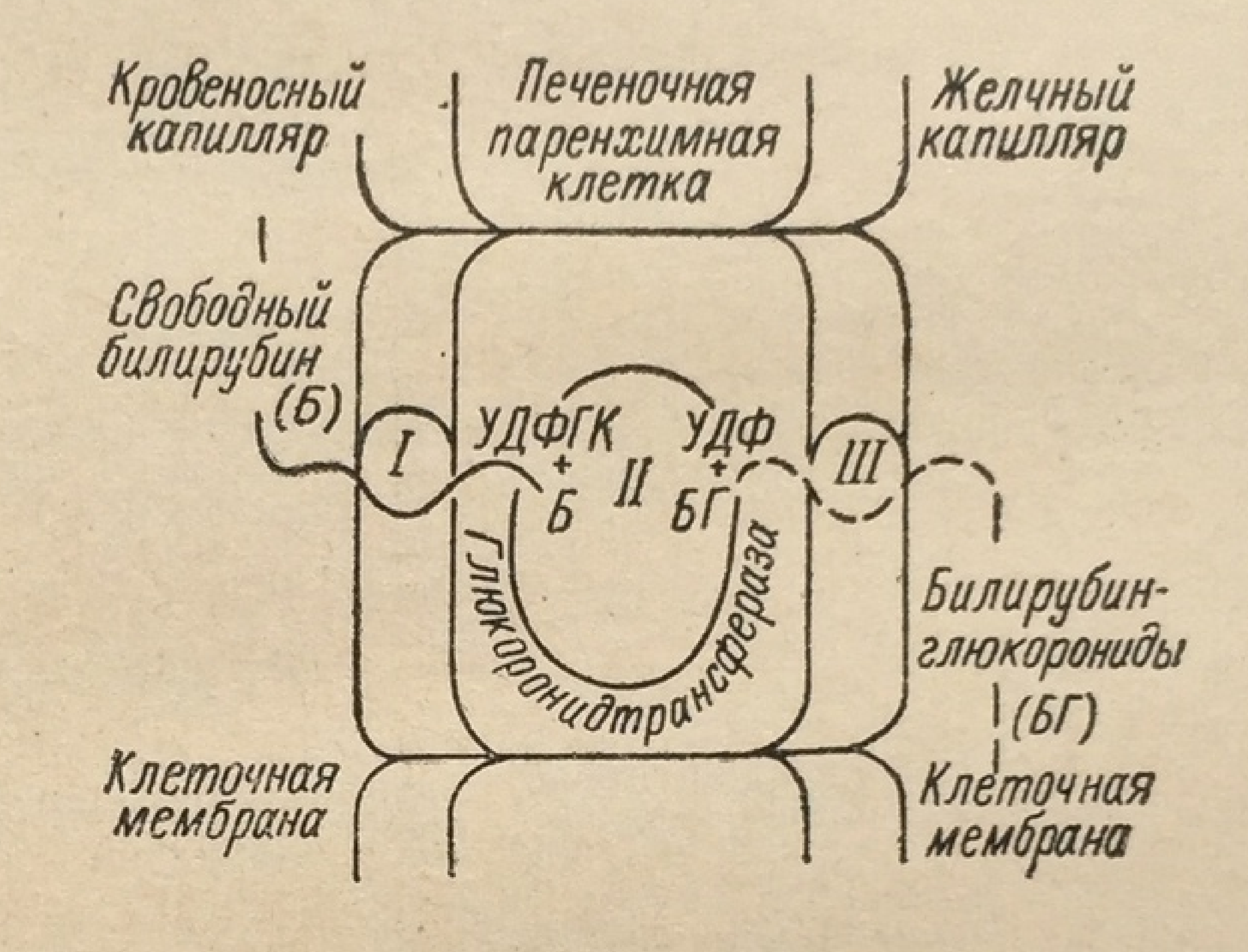


Рис. 16. Ферментные системы, участвующие в переносе билирубина через мембрану печеночной клетки (*I*), в его связывании (*II*) и экскреции из гепатоцита в желчные капилляры (*III*). (По: Тодоров, 1966, рис. 396, стр. 950).

Исследованиями Коле (Cole a. Lathe, 1953; Cole a. oth., 1954), Биллинга и Лате (Billing a. Lathe, 1956, 1958) установлено, что реакция Ван ден Берга идет в два этапа, в результате чего получаются два различных азобилирубина: пигмент А и пигмент В.

Непрямой билирубин дает 2 молекулы пигмента А, диглюкоронид (пигмент II) — 2 молекулы пигмента В, моноглюкоронид (пигмент I) — 1 молекулу пигмента А и 1 молекулу пигмента В.

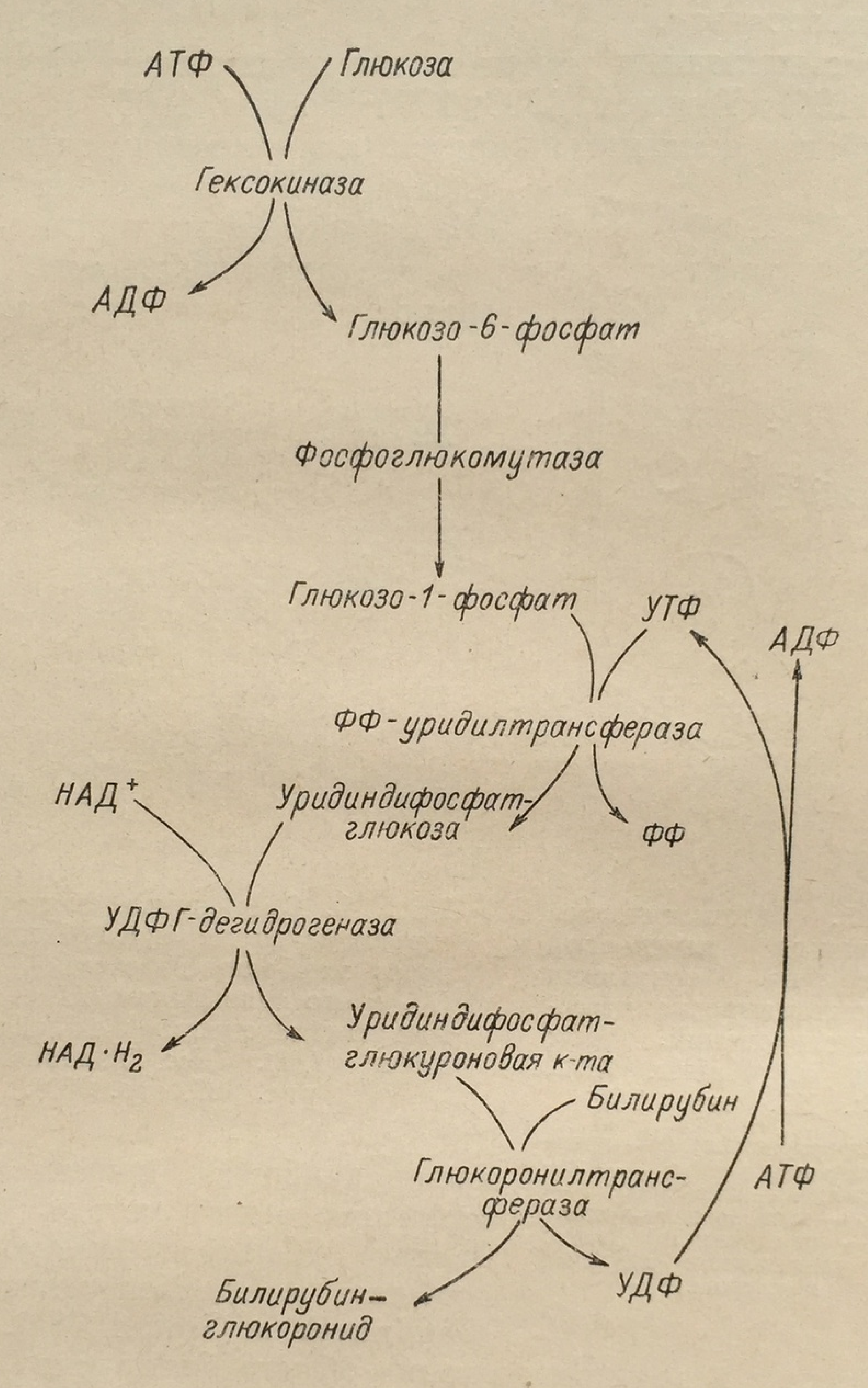


Рис. 17. Возможный механизм связывания билирубина глюкуроновой кислотой. (По: Schiff, 1963, рис. 66, стр. 203).

Отдельные фракции билирубина могут быть разделены с помощью колоночной хроматографии (Cole a. oth., 1954; von Sommerhalder a. oth., 1962), что схематически представлено на рис. 18; бумажной хроматографией (Cole a. Lathe, 1953; Шварцман, 1961) или распределением в различных растворителях (Schacter,

1959). Кроме того, предложен целый ряд микрометодов для определения билирубина (Финько, 1963; Водкайло, 1964; Гусарова, Сивашинская, 1964; Сулло, 1964; Sherlock, 1965).

При определении билирубина рекомендуется пользоваться гемолизированной сывороткой крови, так как гемолиз искажает результаты (Sims a. Horn, 1958; Watson, 1960).

Обзор методов определения билирубина и его фракций дан в книгах И. Тодорова (1963, 1966) и З. А. Бондарь (1965).

Различные формы желтух могут быть отдифференцированы при определении общего билирубина и его фракций в крови (рис. 19).

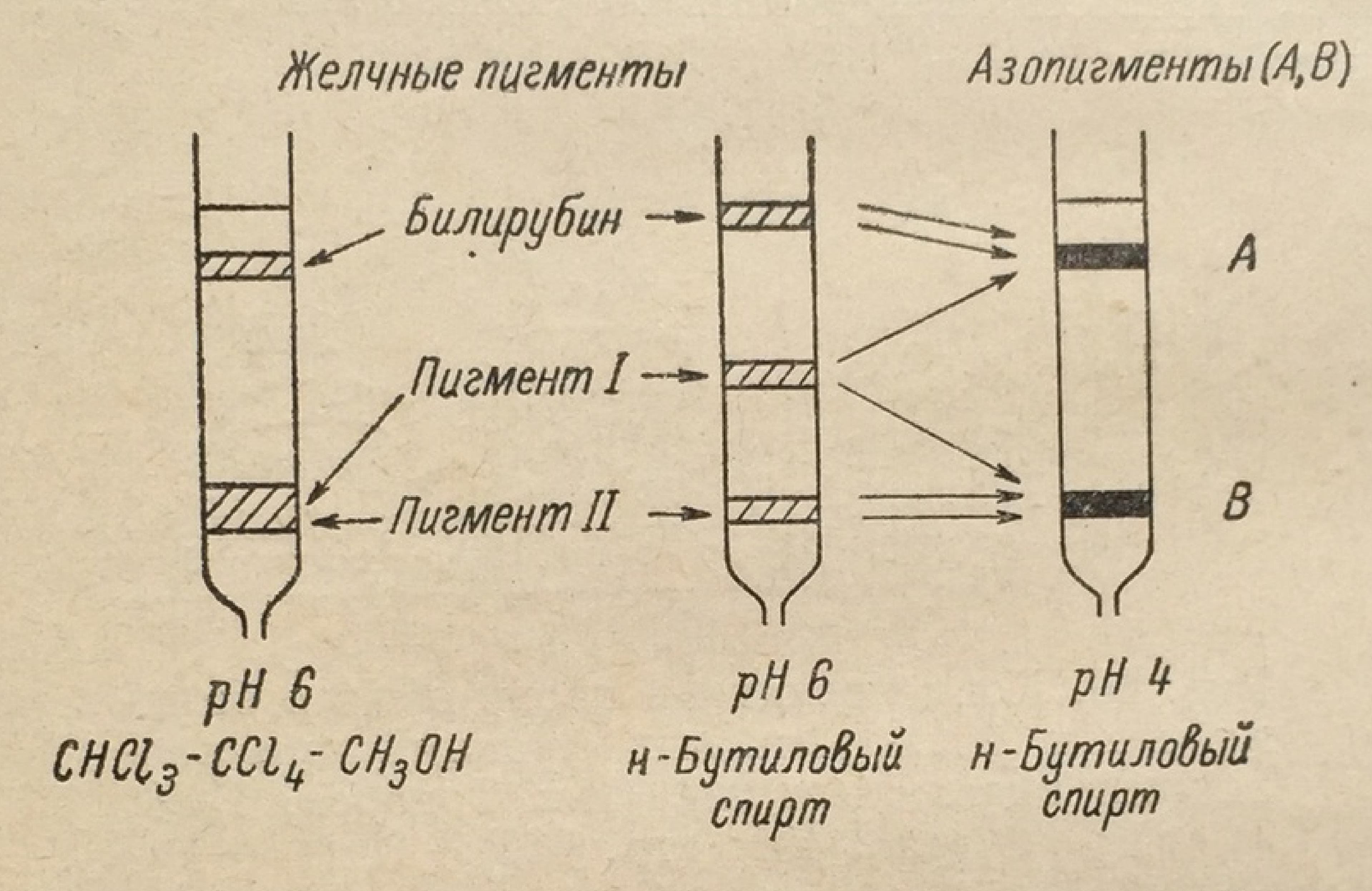


Рис. 18. Хроматографическое разделение билирубиновых фракций и их азопигментов. (По: Schiff, 1963, рис. 63, стр. 201).

При всех видах желтух уровень билирубина в крови повышен, в большинстве случаев он повышен также и в моче (Scherlock, 1962; Тодоров, 1966).

Клиническое проявление желтухи (билирубинемия) может быть обусловлено увеличением образования свободного (непрямого) билирубина в ретикулоэндотелии (гемолитическая желтуха), обтурацией желчевыводящих путей (механическая желтуха) и поражением печеночных клеток с нарушением образования билирубинглюкоронидов или недостаточностью трансферазной системы (врожденной), вследствие чего также нарушается образование билирубинглюкоронидов (паренхиматозные желтухи) (Забелина, 1966).

У здорового человека на хроматограммах сыворотки крови определяется лишь фракция свободного билирубина, а на хроматограммах желчи — только билирубин, связанный с глюкуроновой кислотой (диглюкоронида 75% и моноглюкоронида 25%).

Механическая или застойная желтуха. Имеет место увеличение прямого билирубина (до 32 мг%), в ос-

новном за счет билирубиндиглюкоронида. Непрямой билирубин слегка повышен. В далеко зашедших случаях повышается значительно. Хроматографическое исследование фракций билирубина при этом типе желтухи дает следующую картину: диглюкоронид составляет 45.5% от общего билирубина, моноглюкоронид — 17.5%, а непрямой билирубин — соответственно 37% (Шварцман, 1964).

В моче реакция отрицательная.

Гемолитическая желтуха. Повышен уровень непрямого билирубина до 6—10 мг% и более за счет распада эритроцитов. Прямой билирубин без изменений. Реакция в моче положительная.

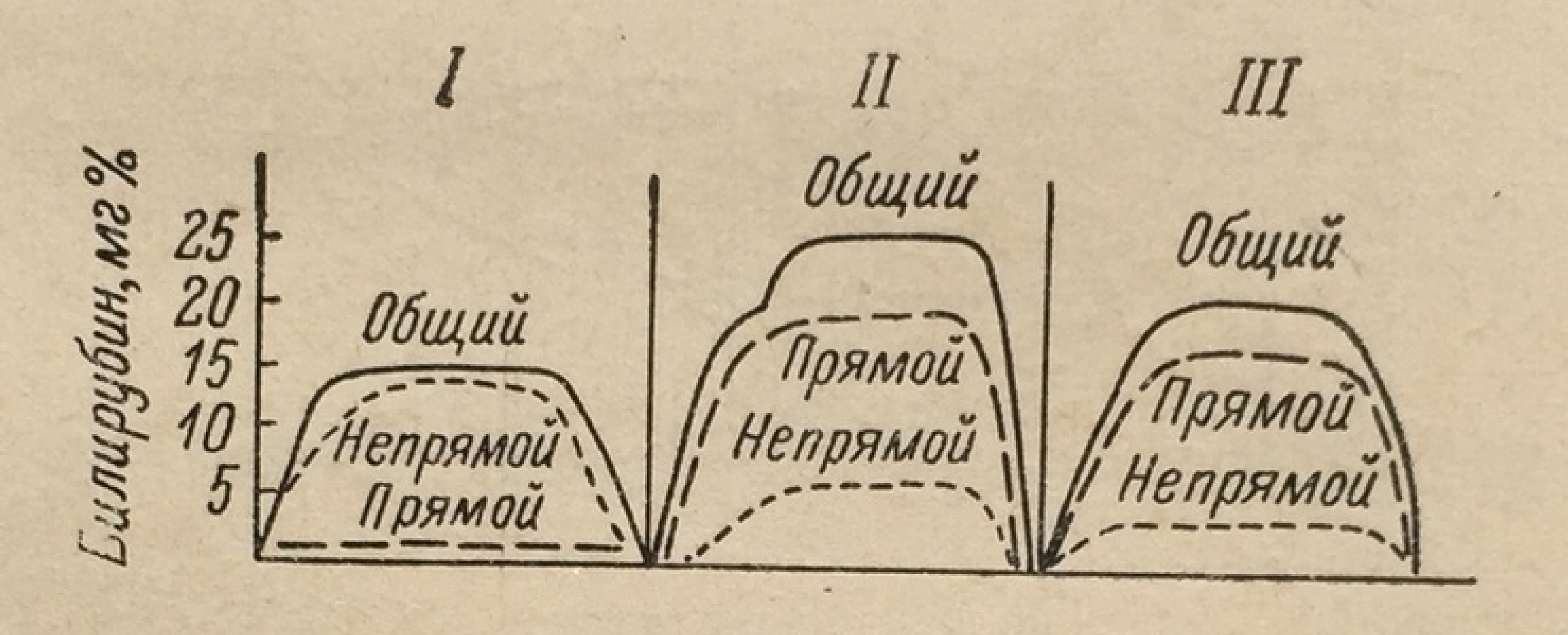


Рис. 19. Концентрация в крови общего билирубина и билирубиновых фракций при различных видах желтухи. (По: Тодоров, 1966, рис. 401, стр. 962).

I — гемолитическая желтуха: *II* — застойная желтуха; *III* — гепатоцеллюлярная желтуха.

Паренхиматозная желтуха. Увеличен прямой билирубин в крови за счет билирубинмоноглюкоронида в связи с деструкцией печеночных клеток. Повышается уровень и непрямого билирубина, но в меньшей степени, вследствие нарушения ферментных систем, осуществляющих синтез глюкуроновой кислоты с билирубином.

С помощью хроматографического анализа определяются все три фракции билирубина (моноглюкоронид, диглюкоронид и свободный). В случах, когда билирубинемия выражена незначительно, выявляются только две фракции (моноглюкоронид и свободный билирубин).

В моче реакция положительная.

В отдельные фазы эпидемического гепатита наблюдается полный параллелизм в динамике изменения фракций билирубина, что позволяет с помощью их определения следить за динамикой текущего процесса в печени. В более тяжелых случаях увеличивается относительное содержание моно- и диглюкоронидных фракций, особенно последней по сравнению с количеством свободного билирубина (Бондарь, 1965).

Определение фосфолипидов в крови

В качестве диагностического теста при некоторых заболеваниях печени, сопровождающихся изменением жирового обмена (эпидемический гепатит, печеночная кома, первичный билиарный цирроз печени, ксантоматоз) можно рекомендовать определение фосфолипидов в крови.

Фосфолипиды крови, образующиеся в печени, участвуют в переносе жирных кислот в ткани организма и этим самым предотвращают накопление нейтрального жира в печени.

В норме у человека колебания сывороточных фосфолипидов составляют 110—250 мг% (по лецитину) (Bockus, 1965). Увеличение фосфолипидов сыворотки крови наблюдается у больных с первичным билиарным циррозом, эпидемическим гепатитом, ксантоматозом. Резко выраженный подъем уровня фосфолипидов отмечается при механической желтухе, независимо от местоположения обтурации. При дегенерации печеночных клеток концентрация фосфолипидов, наоборот, уменьшается. Однако определение фосфолипидов редко используется для дифференциации типа желтух (Bockus, 1965; Забелина, 1966).

Как правило, фосфолипиды определяются по содержанию фосфора. Существующие методы основаны на определении липоидного фосфора либо в жирах, экстрагированных из сыворотки тем или иным органическим растворителем, например смесью спирта с эфиром или спирта с бензолом и т. д. (Baginski a. Zak, 1960), либо в белковом трихлоруксусном осадке, увлекающем за собой и фосфолипиды (Zilwersmit a. Davis, 1950).

Принцип метода Зильверсмита и Дейвиса. При осаждении белков крови трихлоруксусной кислотой осаждаются фосфолипиды. Осадок минерализуется хлорной кислотой. Фосфор определяется колориметрически.

Определение ферментов в крови

Из различных методов функционального состояния печени для клиницистов очень ценным является исследование активности ряда ферментов сыворотки крови, позволяющее установить характер поражения печени. Особенно большое значение имеет определение специфических, или так называемых индикаторных, ферментов печени — фруктозо-1-фосфатальдолазы, орнитинкарбамилтрансферазы, сорбитдегидрогеназы, — а также неспецифических ферментов — как трансаминазы, альдолазы, щелочной фосфатазы и др.

Приводим методы определения активности указанных ферментов.

Трансаминазы. Примером трансаминазной реакции является межмолекулярный перенос аминогруппы с α-амино-

кислоты на α-кетокислоту. В тканях человека присутствует большое число различных трансаминаз, но в максимальной концентрации содержатся глютаминощавелевоуксусная трансаминаза (ГЩТ) и глютаминопировиноградная трансаминаза (ГПТ).

ГЩТ катализирует реакцию переаминирования между глютаминовой и щавелевоуксусной кислотами (1), а ГПТ— между глютаминовой и пировиноградной (2).

1. $L(+)$ глютаминовая кислота + щавелевоуксусная кислота $\rightleftarrows$ $\rightleftarrows$ α-кетоглютаровая кислота + $L(+)$ аспарагиновая кислота.
2. $L(+)$ глютаминовая кислота + пировиноградная кислота $\rightleftarrows$ $\rightleftarrows$ α-кетоглютаровая кислота + $L(+)$ аланин.

У человека наивысшая активность ГЩТ отмечается в сердце, затем в печени, скелетных мышцах и почках, а для ГПТ — соответственно в печени, почках, сердце и скелетных мышцах. Наличие ГЩТ и ГПГ показано в цельной крови, сыворотке и плазме. Уровень сывороточной ГЩТ трансаминазы у здорового человека составляет 4—40 ед. при определении колориметрическими методами, а для ГПТ — 1—45 ед. (Karmen a. oth., 1955; Bockus, 1965; Бондарь, 1965).

Существует ряд колориметрическх методов определения активности сывороточных трансаминаз. Методика Райтмана и Френкеля (Reitman a. Frankel, 1957) для определения одновременно двух трансаминаз при использовании в клинической практике оказалась наиболее простой и доступной.

Описание методов можно найти в книгах И. Тодорова (1963, 1966) и М. Д. Подильчака (1967).

Следует отметить, что определение этих ферментов должно проводиться натощак.

Наиболее значительные изменения обеих трансаминаз отмечаются при остром токсическом гепатите, вызванном отравлением четыреххлористым углеродом, когда их уровень достигает 30 000 ед. в разгар заболевания. Изменение уровня трансаминаз в сыворотке является весьма чувствительным индикатором клинического течения вирусного гепатита. Подъем уровня активности сывороточных трансаминаз начинается уже в продромальной фазе заболевания и превышает нормальный уровень в 10—100 раз в разгар болезни. С клиническим выздоровлением отмечается и нормализация уровней этих ферментов (рис. 20). Если начинается осложнение заболевания, то уровень трансаминаз вновь повышается. Следует отметить, что изменения ГПТ являются более вариабельными по сравнению с ГЩТ. Увеличение содержания трансаминаз при повреждении паренхимы печени объясняется некрозом клеток или нарушением проницаемости клеточных мембран, в результате чего ферменты поступают в кровь в избыточном количестве. Различные типы циррозов печени, новообразования также сопровож-

даются повышением уровней трансаминазных активностей. Однако количественно эти изменения значительно ниже, чем при гепатитах. Трансаминазный тест важен при дифференциации паренхиматозной желтухи от механической. По мнению ряда авторов, увеличение уровня обеих трансаминаз выше 400 ед. характерно для паренхиматозной желтухи (Wroblewski, 1959; Bockus, 1965; Бондарь, 1965; Забелина, 1966). Определение трансаминаз имеет значение также для дифференциации типа желтух у новорожденных, у которых средний уровень сывороточных трансаминаз равен 120 ед. Физиологическая гипербилирубинемия новорожденных и гемолитическая желтуха у них ассоциируются с нормальными величинами трансаминаз (Bockus, 1965).

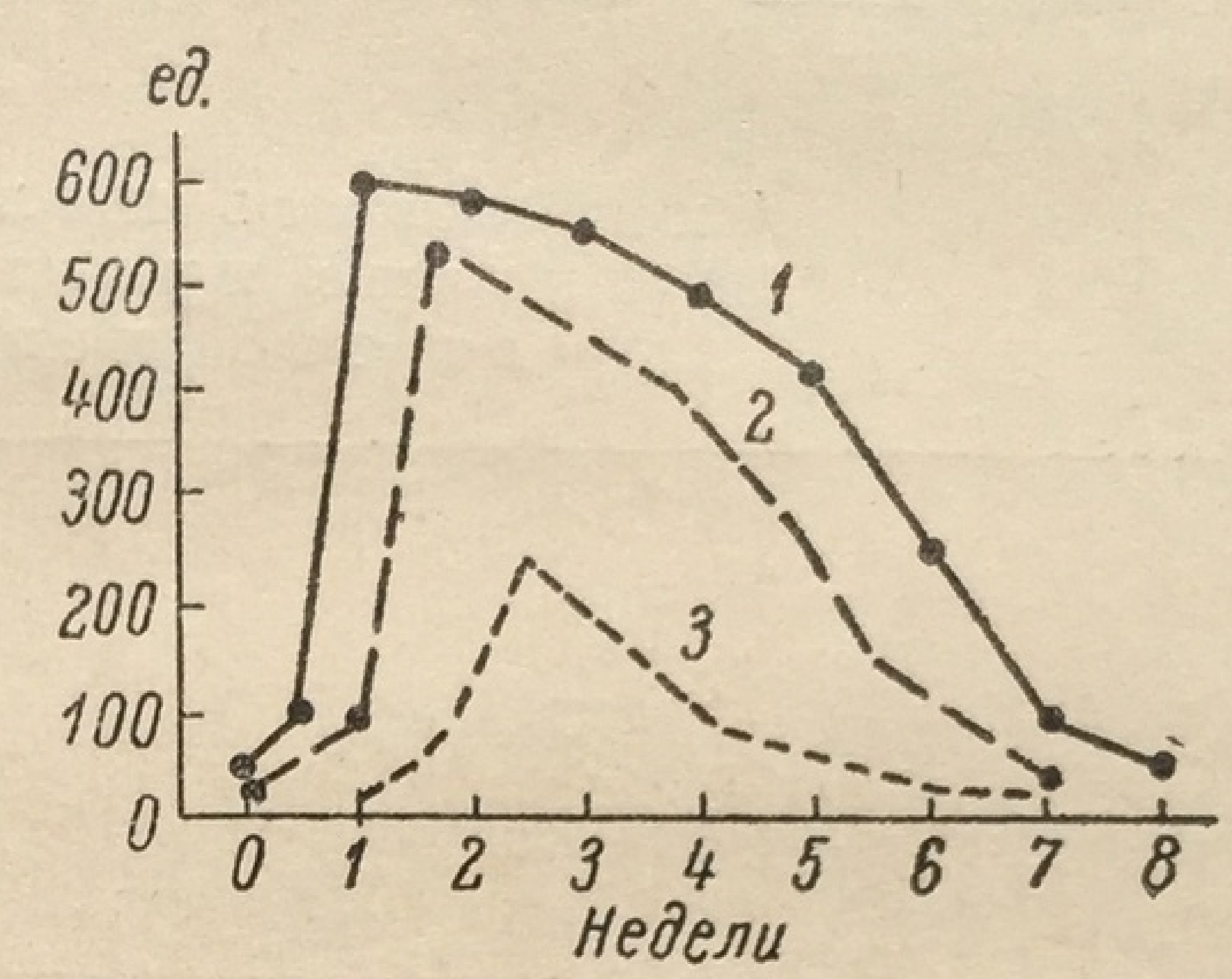


Рис. 20. Схематические трансаминазные кривые при остром гепатите. (По: Markoff u. Kaiser, 1962, рис. 24, стр. 39).

1 — сывороточная глютаминопировиноградная трансаминаза; *2* — глютаминощавелевоуксусная трансаминаза; *3* — сывороточная лактикодегидрогеназа.

Щелочная фосфатаза. Фермент относится к глобулинам сравнительно небольшого молекулярного веса. При использовании электрофоретического разделения белков сыворотки крови на крахмале показано, что щелочная фосфатаза передвигается с α_1-α_2- и β-глобулинами (Hess, 1962). Фермент широко распространен в тканях человека. Особенно высокое содержание отмечается в слизистой тонкой кишки, почках, мозгу, печени. Имеется в крови, лимфе, желчи, кале, но нет в моче. Щелочная фосфатаза катализирует гидролиз моноэфиров ортофосфорной кислоты при оптимуме pH 9.2—9.6.

Существует много методов для определения сывороточной щелочной фосфатазы. Наиболее широко распространенными являются метод Боданского (Bodansky, 1933), метод Кинг и Армстронга (Abderhalden, 1958) или их модификации.

Принцип метода Боданского и его модификаций основан на расщеплении β-глицерофосфата и определении освобождающегося при этом неорганического фосфора. У здорового человека уровень щелочной фосфатазы в сыворотке крови составляет 0.5—4.0 ед. Боданского.

Определение щелочной фосфатазы методом Кинг и Армстронга или в его модификациях основано на определении фенола, освобождающегося из фенилфосфата, используемого в качестве субстрата. В норме у человека уровень ферментативной активности составляет от 3 до 13 ед. Кинг—Армстронга. Более подробное описание методов определения щелочной фосфатазы и их оценку

можно найти в ряде специальных руководств (Тодоров, 1963, 1966; Deren a. oth., 1964; Bockus, 1965; Бондарь, 1965; Забелина, 1966; Подильчак, 1967).

О характере изменений уровня щелочной фосфатазы крови при различных заболеваниях печени и диагностической ценности этого теста можно судить на основании литературных данных, приведенных в табл. 2 (Подильчак, 1967).

Таблица 2

Активность щелочной фосфатазы в плазме крови в зависимости от заболеваний печени

Диагноз	Количество больных, % фосфатазная активность		
	норма	умеренное повышение	значительное повышение
Острый вирусный гепатит	34	56	10
Цирроз, токсический гепатит	28	51	21
Цирроз	51	37	12
Метастазы в печень	14	49	37
Внепеченочная обтурация желчевыводящих путей	7	28	65
Холецистит	58	37	5
Хроническая сердечная недостаточность	61	36	3

Холинэстераза. Относится к эстеразам, представляющим большую группу ферментов, катализирующих гидролиз эфиров различных органических кислот. Сывороточная холинэстераза синтезируется в печени и связана с α-глобулиновой фракцией сывороточных белков. При определении активности холинэстеразы биологическим методом скорость расслабления мышцы лягушки, сокращающейся под действием ацетилхолина, сравнивается с действием стандартной сыворотки. В норме у здоровых лиц холинэстеразная активность составляет 1.32—2.54 ед. Широко применяются также и химические методы (Борисов и Розенгарт, 1950; Покровский, 1961, 1962).

Принцип метода Хелл и Лукас в модификации П. И. Борисова и В. И. Розенгарта основан на определении количества уксусной кислоты, образующейся из ацетилхолина под действием сыворотки. У здорового человека активность холинэстеразы составляет 2.3—7.6 мкмоля уксусной кислоты в 1 мин.

Описание других методов определения холинэстеразной активности можно найти в книгах З. А. Бондарь (1965), И. Тодорова (1966), М. Д. Подильчака (1967) и др.

Наиболее часто определение холинэстеразы в качестве диагностического теста используется при заболеваниях печени. При этом отмечается снижение уровня ферментативной активности в сыворотке крови, что является результатом нарушения функции клеток печени. Значительное падение уровня холинэстеразной активности наблюдается при хронических гепатитах, переходящих в цирроз; при длительно продолжающейся обструкции; при злокачественных опухолях печени.

Однако этот тест не сможет быть использован при дифференциации одного вида желтухи от другого, а также цирроза от новообразования печени. Кроме того, уровень холинэстеразы колеблется в норме в широких пределах и зависит от многих внепеченочных факторов, что снижает диагностическую ценность этого теста.

Лейцинаминопептидаза. Многие авторы считают гиперпептидаземию очень ценным тестом при заболеваниях печени. Наибольшие изменения уровня лейцинаминопептидазы в сыворотке крови наблюдаются при инфекционных и хронических гепатитах и холециститах, сопровождающихся осложнениями со стороны паренхимы печени. Подъем уровня ферментативной активности в крови у больных с вышеуказанными заболеваниями обусловлен повышенным распадом белка в тканях, пораженных патологическим процессом, в результате чего ферменты поступают в значительных количествах в ток крови (Тодоров, 1963; Boyer a. oth., 1963; Bockus, 1965; Подильчак, 1967).

Характеристика методов определения активности лейцинаминопептидазы представлена в разделе «Методы исследования поджелудочной железы».

Лактикодегидрогеназа. Фермент гликолитического цикла, катализирует обратимую реакцию превращения молочной кислоты в пировиноградную. Дифосфопиридиннуклеотид является окислительно-восстановительным коэнзимом лактикодегидрогеназы. Фермент стабилен. Его активность остается без изменения при хранении сыворотки по крайней мере в течение недели при 4° и незначительно падает, если сыворотка хранится в замороженном состоянии в течение месяца.

Уровень активности сывороточной лактикодегидрогеназы в норме у человека при определении колориметрическим методом Кэбоута и Врублевского (Wroblewsky, La Due, 1955) составляет 120—400 ед. в 1 мл.

Существует ряд методов определения активности лактикодегидрогеназы, основанных большей частью на одном и том же принципе (Wroblewsky, La Due, 1955; White, 1956; Sevela, Tovarek, 1959; Natelson, 1961).

Принцип метода заключается в следующем. Молочная кислота в щелочной среде в присутствии лактикодегидрогеназы и дифосфопиридиннуклеотида окисляется в пировиноградную, которая

с 2,4-динитрофенилгидразином дает окрашенный продукт, определяемый спектрофотометрическим или колориметрическим способом. По количеству образовавшейся пировиноградной кислоты судят об активности фермента.

Описание методов определения лактикодегидрогеназы представлено рядом авторов (Тодоров, 1963; Bockus, 1965; Подильчак, 1967).

При обследовании более чем 100 случаев с различными гепатобилиарными заболеваниями Ву и Санг (Wu a. Sung, 1962) наблюдали увеличение активности сывороточной лактикодегидрогеназы при новообразованиях печени, вирусном гепатите и циррозах. Паренхиматозная желтуха также сопровождается высоким уровнем активности фермента в сыворотке. Увеличение концентрации сывороточной лактикодегидрогеназы обнаружено также при других заболеваниях (инфаркт миокарда, анемия, лейкемия, болезни почек и др.).

В последнее время показано, что ряд ферментов сыворотки крови находится в гетерогенной смеси, представляющей собой комплекс ферментов, обладающих специфичностью к определенному субстрату. Однако они могут быть разделены с помощью специальных методов на отдельные компоненты, которые получили название изоферментов. Так, методом электрофореза в крахмальном геле, в агаре или путем хроматографии на столбце диэтиламиноэтилцеллюлозы лактикодегидрогеназа сыворотки крови разделена на 6 изоферментативных фракций, которые локализуются вдоль электрофоретического спектра белков сыворотки крови: α_1, α_2, β и несколько разновидностей γ. Они отличаются друг от друга первичной структурой, порядком расположения аминокислот и т. д.

Показано, что к печени имеет отношение, по-видимому, лактикодегидрогеназа γ-фракции, которая повышается при заболеваниях печени. При хронических гепатитах наряду с γ-фракцией повышается также и α_2-фракция. Существует мнение, что γ-ЛДГ находится преимущественно в паренхиме печени, а α-ЛДГ — в элементах мезенхимы (Zuppinger a. oth., 1962).

Таким образом, более тонкая дифференциация отдельных ферментативных систем на изоферментные компоненты дает возможность различать ферменты, специфические для той или другой ткани (Горжейши, 1967).

Орнитинкарбамилтрансфераза (орнитинтранскарбамилаза). Встречается только в печеночных клетках. Практикуется метод Райхарда и его модификации (Reichard, 1957a, 1957b; Reichard a. Reichard, 1959; Weber, 1963).

Принцип метода основан на процессе арсенолиза цитруллина до орнитина, углекислоты и аммиака, катализируемого этим ферментом. По количеству выделенного аммиака, который улавливается реактивом Несслера, судят об активности фермента. У здоровых людей активность равна 0.26—2.4 ед.

Ф р у к т о з о - 1 - ф о с ф а т а л ь д о л а з а. Находится только в клетках печени. При поражениях паренхимы печени увеличивается активность ферментов крови. Определение основано на оптическом тесте Варбурга, когда активность фермента определяется по степени окисления восстановленной формы дифосфопиридиннуклеотида (Wolf a. oth., 1957; Mattenheinmer, 1961; Тодоров, 1963, 1966).

А л ь д о л а з а. Фермент катализирует обратимую реакцию расщепления фруктозо-1.6-дифосфата на две фосфотриозы: фосфоглицериновый альдегид и монофосфат диоксиацетона. Фермент высокоспецифичен, так как образование фосфотриоз происходит только из фруктозо-1.6-дифосфата. Встречается во всех органах и тканях человека.

Для определения активности альдолазы применяются колориметрические методы, основанные на образовании цветных фенилгидразонов в щелочной среде, интенсивность окраски которых прямо пропорциональна концентрации фосфотриоз (Sibley a. Lehninger, 1949; Dounce a. oth., 1950; Bruns, 1954; Bruns a. Jacob, 1954a; Bruns a. Puls, 1954b; Товарницкий, 1964).

Распространены также спектрофотометрические методы, основанные на оптическом тесте Варбурга, когда по степени превращения DPNH в DPN^+ определяется концентрация одной из триоз — диоксиацетонфосфата, по которой судят об активности фермента (Mattenheinmer, 1961; Тодоров, 1963, 1966).

Показано, что при заболеваниях печени (гепатиты, циррозы, холециститы, рак и др.) активность альдолазы сыворотки увеличивается. Особое значение имеет определение активности альдолазы крови при вирусном гепатите, когда имеет место увеличение в 4—20 раз, и, что особенно важно, на ранних стадиях заболевания (до 10-го дня).

Таким образом, определение этого фермента имеет не только диагностическое, но дифференциально-диагностическое значение.

Более подробное освещение этого метода, а также описание других методов определения ферментов, имеющих важное значение в исследованиях функционального состояния печени, можно найти в ряде руководств (Тодоров, 1963, 1966; Bockus, 1965; Бондарь, 1965; Тульчинский, 1965; Мансурова, 1967; Подильчак, 1967).

Определение билирубина и уробилиногена в моче

Для изучения пигментного обмена имеет значение определение не только билирубина в крови, но и определение билирубина и уробилина в моче и стеркобилина в кале. В норме с мочой билирубин выделяется в минимальных количествах (7—20 мкг/кг за 24 часа), которые не могут быть обнаружены общепринятыми ка-

чественными пробами. Билирубинурия имеет место при заболеваниях печени и желчных путей. Почечный фильтр пропускает в мочу только билирубин с высокой растворимостью. Непрямой билирубин не может пройти через здоровый почечный фильтр. Почечный порог для билирубина выше 2 мг% (Тодоров, 1963; Bockus, 1965).

Как правило, для определения билирубина в моче применяются качественные пробы, основанные на его превращении какими-нибудь окислителями в биливердин изумрудно-зеленого цвета. Широкое распространение имеет иодная проба Труссо—Розина. При наслаивании спиртового раствора иода на мочу образуется зеленое кольцо биливердина. Проба чувствительна, но надо помнить, что примесь крови дает также положительную реакцию. Можно использовать для определения билирубина в моче так называемую диазореакцию Эрлиха, в основе которой лежит диазореакция по Ван ден Бергу. При наличии билирубина появляется фиолетово-красное окрашивание. Практически удобными являются сухие пробы. Существует индикаторная бумага, пропитанная дихлорфенолиндофенолом. Если на бумажку капнуть мочу, содержащую билирубин, то появляется пятно зеленого цвета. Имеются таблетки, состоящие из диазореактивов, которые используются для обнаружения билирубина в моче.

Существуют и количественные методы определения билирубина в моче, но они не находят широкого применения в практической деятельности (Jendrassik u. Grof, 1938a, 1938b; Gries u. Gries, 1956; Schacter, 1959; Rodriguez a. oth., 1962).

Приводим метод Родригеса и др. (Rodrigues a. oth., 1962). Билирубин осаждается 10%-м раствором хлористого бария с добавлением натронной щелочи до pH 8.5—10.0. Затем билирубин окисляется смесью, состоящей из 3%-го раствора перекиси водорода, концентрированной HCl и 96°-го спирта. Содержание билирубина в моче определяется спектрофотометрически при длине волны 660 ммк.

Большое диагностическое значение имеет определение уробилиногена в моче. Уробилиногенурия считается одной из самых чувствительных и достоверных проб функционального исследования печени.

Повышенный уровень уробилиногена в моче отмечается при гепатитах, паренхиматозной желтухе, частичной обструкции желчных путей, а также в случае поражения паренхимы печени без признаков желтухи. У некоторых больных с острым вирусным гепатитом патологическая уробилиногенурия наблюдается в преджелтушной стадии заболевания.

В свежевыпущенной моче выделяются уробилиногеновые тела (сюда относятся уробилиноген, стеркобилиноген, α-уробилиноген и третий уробилиноген). За сутки у здорового человека выделяется 0—4 мг уробилиногена, в среднем 0.5—2 мг. После стояния мочи

уробилиногеновые тела переходят в уробилиновые тела (соответственно: уробилин, α-уробилин, стеркобилин и третий уробилин). Отдельно эти тела не определяются. Существуют как качественные, так и количественные методы определения уробилиногеновых и уробилиновых тел в моче, однако практическое применение имеют качественные пробы. Подробное описание этих проб (Шлезсингера, Богомолова и др.) можно найти в руководствах В. Е. Предтеченского (1960), Пейджа и Калвера (Page a. Culver, 1961), И. Тодорова, (1963, 1966), А. А. Шелагурова (1964) и др.

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ТЕСТЫ

В настоящее время для изучения экскреторной функции печени широкое распространение получили функциональные тесты с бромсульфалеином и с красителем бенгальской розовой. Бромсульфалеиновый тест был предложен Розенталем и Вайтом (Rosenthal a. White) в 1924 г. для исследования функции печени (Bockus, 1965). Микрометоды для определения бромсульфофталеина предложены Хофманом и Этелем (Hoffmann u. Oettel, 1959), Фогтом и Штером (Vogt a. Stehr, 1956).

Бромсульфалеиновая проба (BSP) относится к числу самых ценных методов функционального исследования и имеет большое диагностическое значение (Несговорова, 1960; Абасов, 1962; Leevy, 1961; Schiff, 1963; Бондарь, 1965). Проба очень чувствительна. В норме экскреция бромсульфалеина — функция паренхиматозных клеток печени. С помощью этой пробы выявляются ранние и легкие явления поражения печени, остаточные явления после перенесенных заболеваний. Проба является особенно полезной при диагнозе легких начальных нарушений печени, так как она становится положительной задолго до появления желтухи. По мнению ряда авторов, клиническое выздоровление при остром гепатите наступает только после нормализации бромсульфалеиновой пробы (Тодоров, 1963; Bockus, 1965; Забелина, 1966). При всех видах застойных желтух BSP положительна. При этом краска задерживается в печени и крови вследствие наличия препятствий для выхода желчи. При гемолитических желтухах проба нормальная.

Проба проводится следующим образом. Утром натощак в вену больного вводится бромсульфалеин, хорошо растворимый в воде, в дозе 2—5 мг на 1 кг веса тела больного. Для исследования кровь берется через 3 и 45 мин. после инъекции краски. Количество краски в сыворотке определяется фотометрически по интенсивности красно-фиолетовой окраски раствора при сравнении с показателями кривой стандартных растворов. Концентрация бромсульфалеина в крови, взятой через 3-минутный интервал, принимается за 100%, и по отношению к ней рассчитывается процент краски, оставшейся через 45 мин. (Абасов, 1962; Тодоров, 1963, 1966;

Bockus, 1965). В норме через 45 мин. остается не более 5% краски. Кровь можно собирать и через 30 мин., тогда удерживается примерно около 10% краски. При поражении паренхимы печени процент задержки ее увеличивается (15—100%), причем наблюдается параллелизм между количеством оставшейся краски и тяжестью поражения печени. Результаты пробы могут быть выражены в форме клиренса BSP, т. е. вычисляется объем плазмы, очищенной от краски за единицу времени. У здорового человека клиренс составляет 5—7 мл/мин. на 1 кг веса тела.

Кроме определения концентрации бромсульфалеина в крови, можно исследовать и выведение его с желчью. В дуоденальной жидкости в норме краска появляется уже через 15 мин. после внутривенного введения и через 45—75 мин. достигает максимальной концентрации. В течение 2 часов в желчи обнаруживается 75% введенной краски (Wirts a. Bradford, 1948; Фишер, 1961; Забелина, 1966).

За последние годы для исследования функционального состояния печени широкое распространение получили радиоактивные препараты бенгальской розовой (бенгал-роз или тетраиодтетрахлорфлуоресцин).

Впервые бенгал-роз был применен в 1923 г. Препарат избирательно поглощается полигональными клетками печени, что и позволяет определить нарушение функции печени при различных патологических состояниях. Однако ограничением для пробы с бенгал-роз была относительно высокая диагностическая доза препарата, который при наличии желтухи мог оказывать токсическое действие на полигональные клетки печени. Тэплин с сотрудниками (Taplin a. oth., 1956) модифицировали методику, заменив в молекуле краски бенгал-роз стабильный иод радиоактивным (J^{131}), и вместо колориметрии для определения краски стали использовать метод поверхностного сцинтилляционного счета. В основу этого метода положено изучение динамики накопления J^{131} бенгал-роз в печени, выведение препарата из органа, а также определение клиренса крови (Фатеева, 1960, 1965; Волкова и др., 1962; Фатеева и др., 1962; Мошиняга, 1963; Bockus, 1965; Забелина, 1966).

Большинство исследователей дает высоко положительную оценку этому методу и считает, что проба с бенгал-роз тонко и точно отражает функциональное состояние печени. Эта проба имеет преимущества перед другими функциональными пробами печени, так как дает возможность одновременной оценки кровотока печени, состояния полигональных клеток и проходимости желчных путей (Marshall a. oth., 1956; Rosenberg a. oth., 1956; Каримова, 1963).

При проведении пробы больной ложится на спину в удобном для него положении; стинтилляционный счетчик помещается над поверхностью печени в близком контакте с кожей. Раствор кра-

ски J^{131} бенгал-роз активностью около 4 мккюри смешивают с небольшим количеством физиологического раствора (0.5—1.0 мл), стерилизуют в течение 40 мин. и вводят больному внутривенно. Сразу же после введения регистрируют счет над печенью через каждые 20 мин. в течение одного часа. Кроме того, записывается кривая поглощения активности в печени на самописце. Оценка результатов пробы проводится с учетом различных показателей: 1) определение высоты и формы кривой печеночного поглощения радиоактивности; 2) определение процента поглощения радиоактивности в печени к определенному периоду времени (например, к 31-й минуте); 3) определение константы *V* — средней скорости поглощения радиоактивности в печени.

По данным Тэплина и др. (Taplin a. oth., 1959), у здоровых людей кривая поглощения в печени повышается и к 30-й минуте достигает плато, при фазе экскреции постепенно падает. По данным М. Н. Фатеевой и др. (1962), наиболее высокий процент поглощения наблюдается у здоровых людей, наиболее низкий — при циррозе и раке печени; наиболее высокая скорость поглощения также отмечается у здоровых людей, а наиболее низкая — при циррозах печени; гепатиты занимают промежуточное положение.

БИОПСИЯ ПЕЧЕНИ

В последнее время все большую ценность приобретает исследование печени с помощью биопсии. В настоящее время из литературы известно о многих десятках тысяч успешно проведенных пункциональных биопсиях печени (Mengini, 1959; Закржевский, 1960; Schmid 1961; Блюгер и Синельникова, 1962; Мансуров, 1962, 1965; Schiff, 1963; Combes, 1964; Bockus, 1965).

Различают биопсию: 1) «слепую», которая осуществляется прямой пункцией через кожу и 2) «направленную», которая проводится под контролем лапароскопа.

Важнейшая роль пункционной биопсии печени — помощь в диагностике. Прижизненное морфологическое исследование помогает правильно подобрать метод лечения и контролировать эффективность терапии. В настоящее время пунктаты печени подвергаются гистологической, гистохимической обработке, фазово-контрастной, флюоресцентной и электронной микроскопии (Блюгер и др., 1964; Смагин, 1966).

За последнее время биопсия печени приобретает значение как объект для биохимических исследований. Полученный материал гомогенизируется, и в гомогенатах определяются различные вещества, активность ферментов и т. д. (Закржевский, 1960; Блюгер и Синельникова, 1962; Тодоров, 1963, 1966; Sherlock, 1965; Bockus, 1965; Чернышова, 1965; Мансурова, 1966, 1967).

Существует много различных видов пункционных игл (Вим Сильвермана, Иверсена и Рогольма, Менгини, Блюгера и Синель-

никовой и др.). В настоящее время отдается предпочтение игле типа Менгини, обеспечивающей наибольшую безопасность пункции.

Лапароскопия (осмотр органов брюшной полости с помощью оптического прибора лапароскопа) в сочетании с прицельной биопсией печени является ценным методом диагностики гепатобилиарных заболеваний. Лапароскопия позволяет под контролем глаза выбирать место биопсии, что имеет большое значение при диагностике очаговых поражений печени. Пункция печени под контролем зрения значительно безопаснее для больного, чем слепая аспирационная биопсия; она дает возможность контролировать состояние пункционного канала в печени и в случаях длительного кровотечения или истечения желчи принимать соответствующие меры. Лапароскопия увеличивает частоту положительных пункций, так как при неудаче можно тут же сделать повторную пункцию (Логинов, 1962, 1965, 1966; Ломаченков, Смирнов, 1963; Renger, 1966). Этот метод позволяет, помимо микроскопического исследования, визуально изучать макроскопическую картину печени (Закржевский, 1960). Лапароскопия дает возможность проводить непосредственную пункцию желчного пузыря. Полученная таким образом желчь может быть подвергнута микроскопическому, бактериологическому, спектрофотометрическому, химическому анализу (определению концентрации билирубина, желчных кислот, бромсульфалеина и т. д.).

Более подробно с техникой биопсии можно ознакомиться в специальных руководствах (Закржевский, 1960; Блюгер, Синельникова, 1962; Schiff, 1963).

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ И РЕЗОРБТИВНЫХ ФУНКЦИЙ ТОНКОЙ КИШКИ

В тонкой кишке наиболее интенсивно осуществляются процессы ферментативного гидролиза пищевых полимеров (белков, жиров, углеводов, нуклеиновых кислот) и переход к всасыванию. Именно здесь (преимущественно в проксимальной части) расщепляется приблизительно 80—90% всех глюкозидных и пептидных связей и, по-видимому, 55—60% триглицеридов. Надмолекулярные агрегации и крупные молекулы гидролизуются под влиянием ферментов поджелудочного сока и сока бруннеровских желез, действующих в полости кишки. В расщеплении липидов существенную роль играет желчь. Дальнейшая гидролитическая обработка пищевых веществ происходит за счет ферментов, структурно связанных с мембранами кишечных клеток. Последние содержат значительный набор ферментов: карбогидраз, пептидаз, эстераз, липаз, нуклеотидаз, фосфатаз и т. д. Почти все упомянутые ферменты концентрируются в области щеточной каймы на поверхности мембран клеток кишечного эпителия, осуществляя мембранное (пристеночное) пищеварение (обзоры: Уголев, 1963, 1965, 1966, 1967).

Структурной основой мембранного пищеварения является щеточная кайма кишечных клеток. Поверхность этих клеток, выстилающих ворсинки, не является гладкой, а образует огромное количество протоплазматических выростов — в норме 50—200 млн на 1 мм^2 поверхности слизистой (рис. 21). Эти выросты, получившие название микроворсинок, покрыты типичной клеточной оболочкой, в которой сосредоточены механизмы, обеспечивающие активный транспорт и, как отмечалось выше, ферменты, принимающие участие в процессах мембранного пищеварения. Ферменты, действующие на поверхности кишки, имеют двоякое происхождение: частично они адсорбированы из химуса (такие панкреатические ферменты, как амилаза, липаза, протеазы), частично — это собственно кишечные ферменты синтезированные

внутри кишечных клеток и транслоцированные на поверхность клеточных мембран.

Полостное пищеварение в основном обусловливает начальные стадии расщепления органических полимеров. Образующиеся продукты элиминируются в область щеточной каймы, состоящей из микроворсинок, где осуществляются промежуточные и заключительные этапы гидролиза до мономеров, пригодных к всасыванию и ассимиляции (рис. 22). Как полостное, так и мембранное пищеварение являются взаимосвязанными и жизненно необходимыми механизмами, однако на долю последнего приходится от 80 до 90% всей работы по расщеплению различных химических связей, кроме того, оно — единственный «поставщик» продуктов всасывания.

Рис. 21. Схематическое изображение кишечной клетки. (По: Trier a. oth., 1963, рис. 2, стр. 769).

1 — микроворсинки; *2* — терминальная сеть; *3* — десмосомы; *4* — митохондрии; *5* — гранулярный ретикулум; *6* — аппарат Гольджи; *7* — базальная мембрана; *8* — гладкий ретикулум; *9* — ядро.

Благодаря тому что на поверхности мембран кишечного эпителия осуществляются заключительные этапы гидролиза биополимеров, в области щеточной каймы возникают высокие концентрации органических мономеров и, следовательно, чрезвычайно благоприятные условия для их резорбции (необходимо отметить, что всасыванию подвергаются лишь мономеры). Не менее важно то обстоятельство, что пространственно объединяются процессы, завершающие пищеварение и начинающие всасывание. Мембранное пищеварение обеспечивает высокие скорости резорбции конечных продуктов переваривания пищевых веществ и тесно связано с процессами активного транспорта (Уголев, 1963, 1965, 1966, 1967).

В последнее время стало известно, что существует целый ряд заболеваний, в основе которых частично или главным образом лежат нарушения мембранного пищеварения. Вопросы, касающиеся патологии этого механизма, будут в общих чертах изложены в разделе «Некоторые клинические аспекты мембранного

пищеварения». Отметим лишь, что большинство результатов исследований, приведенных ниже, ранее анализировалось без учета такого важного механизма, как мембранное пищеварение. В настоящее время клиницистам необходимо помнить, что суще-

Рис. 22. Детализированная схема взаимоотношений полостного (*А*) и мембранного (*Б*) пищеварения в тонкой кишке без пищевых веществ (*I*) и при их наличии (*II*). (По: Уголев, 1961, рис. 5, стр. 39).

1 — ферменты в полости тонкой кишки (их хаотическое расположение); *2* — микроворсинки; *3* — ферменты на поверхности микроворсинок (строго ориентированы); *4* — поры щеточной каймы; *5* — микробы, не проникающие в поры щеточной каймы; *6*, *7*—пищевые вещества на различных стадиях гидролиза.

ствует чрезвычайно много нарушений функций тонкой кишки, связанных с патологией указанного типа пищеварения.

Характеристика функционального состояния тонкой кишки человека при различных формах патологии значительно менее детальна, чем в отношении других органов желудочно-кишечного тракта, что, вероятно, связано с многочисленными чисто техническими трудностями, возникающими при исследованиях такого рода.

При оценке кишечной фазы пищеварения и всасывания следует дифференцировать те функции, которые определяются состоянием самой тонкой кишки, и те, которые зависят от заболеваний других органов, в частности желудка, поджелудочной железы и желчевыделительной системы.

Существует целый ряд методов, которые позволяют оценить функциональное состояние тонкой кишки, а также процессы переваривания сложных пищевых веществ с последующим всасыванием. Исследование может производиться методами нагрузок с дальнейшим определением в крови, моче и кале продуктов всасывания и метаболитов (как обычных, так и имеющих стабильную или радиоактивную метку); методами зондирования, что дает возможность изучать содержимое и ферментативную активность кишечника в его различных отделах; методом аспирационной биопсии, позволяющим получать пробы слизистой, которые далее подвергаются электронно-микроскопическому и гистохимическому изучению; различными ферментологическими методами; методами баланса, при которых на основании анализа принятого и выведенного определенного вещества можно судить об интенсивности пищеварительных и резорбтивных процессов, и т. д.

ГИДРОЛИЗ И ВСАСЫВАНИЕ УГЛЕВОДОВ

Различные вопросы, касающиеся переваривания и всасывания углеводов, представляют для клиницистов значительный интерес. Для человека углеводы являются основным энергетическим источником. Так, известно, что при умеренной мышечной работе суточная потребность в них составляет в среднем около 500 г (Певзнер, 1958; Wilson, 1962). В норме усвоение углеводов колеблется в пределах 97—98% (Sheehy a. Floch, 1964). Углеводы поступают в организм главным образом в виде поли- и дисахаридов. В процессе переваривания и те и другие гидролизуются до своих конечных продуктов — соответствующих гексоз. В гидролизе полисахаридов принимает участие панкреатическая амилаза, фермент, действующий как в полости, так и на поверхности тонкой кишки и осуществляющий их расщепление до мальтозы. Последняя, как и прочие поступающие в организм дисахариды, подвергается гидролизу за счет соответствующих дисахаридаз — собственно кишечных специфических ферментов, синтезируемых клетками слизистой.

При исследовании функционального состояния тонкой кишки, а также диагностике ряда патологических изменений необходимо дифференцировать пищеварительные и резорбтивные процессы. Обработка полисахаридов происходит в три этапа: полостное пищеварение, мембранное пищеварение, всасывание; дисахаридов — в два этапа: мембранное пищеварение, всасывание. Собственно резорбтивным процессам могут подвергаться лишь мономеры. Эти

обстоятельства необходимо учитывать в клинических условиях при использовании тестов, связанных с определением нарушения всасывания углеводов.

Известно, что уровень сахара крови зависит от количества поступивших углеводов (снижение толерантности к углеводам характеризуется гипергликемией и глюкозурией) (Sheehy a. Floch, 1964).

Химический состав крови, полученной натощак и при различных нагрузках, может дать ценные сведения об углеводном обмене в организме в норме и патологии и является при определенных условиях показателем всасывающей способности кишечника (Hafter 1962; Тодоров, 1963, 1966; Kalser, 1964; Фролькис, 1964).

Гидролитические и резорбтивные функции тонкой кишки могут быть охарактеризованы, в частности, с помощью широко распространенного в клинике метода сахарных нагрузок. Принцип его сводится к исследованию гликемической кривой после введения того или иного сахара.

Можно выделить 4 основных типа гликемических кривых.

1. Нормальная кривая. Указывает на отсутствие выраженных нарушений в гидролизе и всасывании углеводов. Наблюдается также при подострых или хронических инфекциях тощей и подвздошной кишок.

2. Плоская кривая без подъема, вызванного гипергликемией. Возможна при значительных снижениях гидролитических и резорбтивных процессов в тонкой кишке, в частности при спру, идиопатической стеаторрее, а также аденоме поджелудочной железы.

3. Парадиабетическая кривая. В этом случае может быть заболевание поджелудочной железы (латентный период) и нарушение деятельности печени.

4. Кривая, свойственная лицам, перенесшим гастроэктомию. Для этой кривой характерен резкий подъем, вызванный ранней гипергликемией, и затем гипогликемия как выражение позднего демпинг-синдрома, что указывает на наполнение тощей кишки больных с удаленным желудком и на реактивную инсулиновую гипогликемию (Фрумузан, 1961).

При дифференциальной диагностике нарушений пищеварения и всасывания может быть использован тест с глюкозой, для всасывания которой не требуется предварительной обработки.

Проба с глюкозой. Тест толерантности к глюкозе считается традиционным показателем всасывания углеводов в тонкой кишке. Содержание глюкозы в крови поддерживается благодаря сложным взаимодействиям нервных и эндокринных регуляторных механизмов на относительно постоянном уровне, который в норме варьирует в пределах 70—120 мг% (обзор: Лейбсон, 1962; Симонович, 1965, и др.).

Гликемическая кривая дает возможность диагностировать синдром малабсорбции и судить о функциональном состоянии организма, в частности резорбтивного аппарата и главным образом системы, осуществляющей активный транспорт (глюкоза является одним из моносахаридов, который подвергается процессам активного всасывания клетками кишечного эпителия).

Метод заключается в оральном введении натощак (после голодания в течение приблизительно 12 часов) обычно 100 г глюкозы: из расчета 1.75 г на 1 кг веса тела (Harper, 1959; Тодоров, 1963) или 0.75—1.5 г на 1 кг веса тела (Sheehy a. Floch, 1964). Пробы крови исследуются до нагрузки глюкозой и с интервалом в 30 мин. в продолжение 2.5—4.0 часов. Кривая считается нормальной, если при введении глюкозы максимальный подъем, наблюдаемый через 30 мин., составляет 40—60 мг% и уровень сахара крови (глюкозы, содержащейся в крови) возвращается к исходному через 2—2.5 часа (Беюл, 1961; Ruffin, 1963; Sheehy a. Floch, 1964; Симонович, 1965). Так называемая диабетическая гипергликемическая кривая после соответствующей нагрузки связана с патологическими изменениями печени и островкового аппарата поджелудочной железы и рассматриваться не будет. Практическое значение в интересующем нас аспекте имеет плоская гликемическая кривая. Кривая считается плоской в том случае, если содержание глюкозы в крови после стандартной нагрузки в 50—100 г повышается не более чем на 40 мг% по сравнению с ее уровнем натощак (Drube, 1960; Kalser, 1964). Грин и Воллагер (Green a. Wollaeger, 1959) показали, что указанная кривая в 90% случаев обусловлена синдромом малабсорбции (главным образом первичной). Плоская кривая наблюдается также при нарушенном кишечном всасывании, связанном со спру (снижение на 60—90%), болезнью Уиппла, некоторых регионарных энтеритах, туберкулезе мезентериальных желез, склеродерме, амилоидозе, гипотиреоидизме, адренокортикальной недостаточности, островковой клеточной аденоме и т. д. (Moyer a. Womack, 1950; Gardner, 1956; Sheehy a. Floch, 1964).

Однако следует отметить, что в 40% случаев плоская гликемическая кривая обнаруживается у практически здоровых людей. Гарднер (Gardner, 1956) и Райан (Rajan a. oth., 1961) предложили считать определенно установленным нарушением кишечного всасывания глюкозы те случаи, когда максимальный подъем выше уровня натощак не превышает 25 мг%.

Как отмечает Е. А. Беюл (1961), положительная сторона теста заключается в том, что глюкоза легко растворяется в воде, всасывается тонкой кишкой и может быть определена качественно и количественно. Автор рекомендует вводить глюкозу в тонкую кишку через зонд и параллельно проводить исследование с внутривенным введением глюкозы.

Проба с нагрузкой глюкозой, как упоминалось выше, имеет ряд недостатков, важнейшим из которых является зависимость гликемической кривой от аппаратов, контролирующих депонирование всасывающейся глюкозы. Кроме того, этот тест недостаточно надежен при диагностировании синдрома малабсорбции. В клинической практике необходимо в каждом конкретном случае учитывать факторы, влияющие на углеводный обмен, и для выявления нарушений использовать тест в сочетании с другими показателями. В течение последнего времени проба с глюкозой постепенно заменяется более адекватными пробами.

Широко используемое определение сахара крови методом Хагедорна и Иенсена безусловно устарело. Вместо этого способа целесообразнее пользоваться колориметрическим мышьяково-молибденовым методом Нельсона (Nelson, 1944), основанным на определении редуцирующих сахаров. Однако методом Нельсона определяются также, кроме сахаров, и другие редуцирующие вещества, присутствующие в безбелковом фильтрате (глютатион, глюкуроновая и мочевая кислоты, креатинин, метионин), хоть они и составляют незначительную часть.

В этом отношении заслуживают внимания специфические ферментативные методы с использованием глюкозооксидазы, которыми определяется только глюкоза. Эти методы в настоящее время получили широкое распространение и опубликованы как в отечественной, так и в зарубежной литературе. Значительная часть их приведена в обширной сводке Л. Г. Лейбсона (1962), в монографии В. С. Асатиани (1965), а также в работе Далквиста (Dahlqvist, 1964).

Можно также рекомендовать к употреблению в клиниках метод В. К. Городецкого (1964), в котором применяется отечественный препарат фермента. Принцип метода основан на каталитическом действии глюкозооксидазы, которая катализирует окисление глюкозы до глюконовой кислоты. Образующаяся при этом перекись водорода разлагается в присутствии пероксидазы и донатора водорода — о-толидина, интенсивность окраски которого определяется фотометрически.

П р о б а с г а л а к т о з о й. Тест с введением галактозы также может быть показателем кишечного всасывания (Althausen, 1939). Теоретическое преимущество галактозы заключается в том, что она, по-видимому, активно транспортируется кишечными клетками быстрее, чем другие гексозы, и в норме отсутствует в крови. Однако определение ее уровня в крови сопровождается сложными процедурами, что затрудняет использование этого теста в клинике (Sheehy a. Floch, 1964). Тем не менее Э. И. Атаханов (1966) считает более рациональным о состоянии резорбтивной способности тонкой кишки судить по всасыванию именно галактозы, а не глюкозы, так как на уровне галактоземии в меньшей степени отражается ряд привходящих факторов.

8 Заказ № 1392

Метод заключается в том, что натощак (после голодания в течение 12 часов) per os или через тонкий зонд вводится 50 г галактозы, предварительно растворенной в 400 мл воды. Содержание галактозы в крови определяется через 30 и 60 мин. В норме ее уровень после нагрузки колеблется в пределах 13—30 мг% (обычно около 20 мг%), но может достигать 30—40 мг%. Величины ниже 10 и выше 40 мг% наблюдаются при патологических состояниях кишечника (Беюл, 1961; Атаханов, 1966).

Проба с ксилозой. В последнее время все чаще стал использоваться другой тест кишечного всасывания углеводов — нагрузка d-ксилозой (Gamble a. Wilbur, 1961; Kalser, 1964; Фролькис, 1964; Sheehy a. Floch, 1964). Ксилоза — пятиуглеродный углевод (пентоза), лишь в небольшой степени утилизируемый организмом, динамика поступления которого в кровь с последующим выведением в моче мало зависит от состояния печени и инсулярного аппарата. Благодаря этому проба дает возможность дифференцировать нарушения всасывания от расстройств углеводного обмена, связанных с недостаточностью поджелудочной железы (Фролькис, 1964). d-Ксилоза в противоположность глюкозе, повидимому, не подвергается активному транспорту.[1] Ее перенос обеспечивается специфическим механизмом, связанным со структурными особенностями данного углевода. В связи с этим проба с d-ксилозой, хотя и является очень ценным тестом для определения функциональной способности слизистой, однако не отражает тех систем, которые осуществляют активный перенос большинства натуральных моносахаридов, в частности глюкозы и галактозы.

Ранее принималось, что d-ксилоза не метаболизируется в организме, но исследование с применением изотопов (C^{14}-ксилозы) показало, что она подвергается частичному метаболизму (Hiatt, 1957; Wyngaarden a. oth., 1957). Тем не менее ксилоза как тестируемый субстрат обладает некоторыми несомненными преимуществами, так как в норме не обнаруживается в крови и не подвергается обмену в печени (Sheehy a. Floch, 1964). Проба с d-ксилозой, как отмечают Калзер, Шихи и Флоч (Kalser, 1964; Sheehy a. Floch, 1964), является одним из лучших биохимических тестов, употребляемых для диагностики синдрома малабсорбции. Он относительно прост технически и дает определенную информацию о всасывающей способности тонкой кишки. При отсутствии нарушений отклонение от нормального уровня — явление чрезвычайно редкое, тогда как при патологических состояниях, в частности у больных стеаторреей кишечного происхождения, тест отклоняется от нормы в 90% случаев. Таким образом, указанный тест более специфичен, чем проба с глюкозой.

---

[1] При более тщательном исследовании было установлено, что активный транспорт ксилозы имеет некоторое, хотя и небольшое, значение.

Стандартный метод заключается в оральном введении натощак (после голодания в течение 8—12 часов) 25 г d-ксилозы, предварительно растворенной в 250 мл воды, которая запивается таким же количеством воды. Ниже будет изложен тест с введением ксилозы в дозе 5 г, который проводится таким же образом.

Уровень ксилозы определяется в крови через различные интервалы времени, а также в моче, собранной за 5-часовой период (Halmer a. Fouts, 1937; Benson a. oth., 1957; Kalser, 1964; Фролькис, 1964; Sheehy a. Floch, 1964). При исследовании всасывания ксилозы наибольшее значение имеют пробы крови, взятые через 2 часа после нагрузки. В норме в это время по данным А. В. Фролькиса (1964) определяется свыше 30 мг% пентоз; по данным Калзера (Kalser, 1964) — 20 мг%. Бенсон и др. (Benson a. oth., 1957) высказали предположение, что в тонкой кишке происходит полное всасывание ксилозы. Как отмечают Шихи и Флоч (Sheehy a. Floch, 1964), ксилоза всасывается главным образом в двенадцатиперстной кишке и проксимальной части тощей. Фордтран и др. (Fordtran a. oth., 1962) показали, что в норме всасывание в тонкой кишке ксилозы, введенной орально, составляет в среднем 58%, причем большая ее часть резорбируется в верхнем отделе на протяжении примерно 100 см. Скорость всасывания не меняется и при введении ксилозы через зонд. Однако при быстром перемещении пентозы по кишечнику темпы всасывания снижаются. Всасываемость ксилозы увеличивается при атропинизации, замедляющей перистальтику. При оценке 200 кривых зависимости уровня ксилозы в крови от времени как показателя всасывания в кишечнике было обнаружено следующее. После приема 25 г ксилозы минимальное содержание последней в крови в норме через 30 мин. было 13 мг%, через 1 час — 25 мг% и через 2 часа— 19 мг%. Однако при нарушении резорбтивных процессов в тонкой кишке уровень ксилозы в крови становится ниже. У больных идиопатической формой спру средний уровень ксилозы составил 7.6, 15.0 и 21.9 мг%, а у больных той же группы после лечения — 14.1, 23.7 и 29.3 мг% соответственно.

Снижение темпов всасывания d-ксилозы наблюдается также у больных множественными дивертикулами двенадцатиперстной или тощей кишки, диабетической диарреей и стеаторреей и у больных со склеродермой тонкой кишки. При резекции дистального отдела тонкой кишки уровень ксилозы в крови остается нормальным (Beck a. oth., 1962).

Заболевания, сопровождающиеся нарушением всасывания, могут быть частично диагностированы по содержанию ксилозы в моче (Ruffin, 1963). После стандартной нагрузки с мочой, собранной в течение 5 часов, в норме выделяется 6.5—6.7 г (Benson a. oth., 1957; Фролькис, 1964), по другим данным — 4.5—5.0 г и более (Butterworth a. oth., 1959; Kalser, 1964), по данным Шихи и Флоча — около 6 г (Sheehy a. Floch, 1964). Величина в 3.0—

4.5. г является пограничной, тогда как менее 3.0 г рассматривается как отклонение от нормального уровня.

Тест с ксилозой является демонстрационным тестом синдрома малабсорбции. У больных с симптомами спру, как правило, содержание ксилозы в моче заметно снижено (обычно ниже 2.5 г за пятичасовой период, т. е. около 10% от введенной дозы). Тест часто отклоняется от нормы и у больных при асимптоматической форме спру с упорной малабсорбцией. В некоторых случаях, например при болезни Уиппла, может наблюдаться нормальная рентгенограмма кишки, однако тест будет значительно отклоняться. У больных с панкреатической недостаточностью и нарушением всасывания жира тест с ксилозой обычно нормален.

При оральном введении 5 г ксилозы в норме количество ее в моче, собранное за 5 часов, колеблется в среднем в диапазоне 1.2—1.5 г (Butterworth a. oth., 1959; Santini a. oth., 1961; Kalser, 1964). Ряд авторов (Benson a. oth., 1957; Butterworth a. oth., 1959) считают дозу в 25 г более показательной, однако Шихи и Флоч (Sheehy a. Floch, 1964) настойчиво рекомендуют тест с использованием 5 г ксилозы, так как последний не дает нежелательных побочных эффектов (брюшные спазмы, диаррея) и более легок для введения.

Пониженное содержание ксилозы свидетельствует о нарушении кишечных функций (в частности, резорбтивной), однако при первичной малабсорбции оно может наблюдаться при резекции тонкой кишки, регионарных энтеритах, в некоторых случаях постгастроэктомического синдрома, при тропической и нетропической формах спру и т. д. (Zamchek, 1962).

Необходимым условием проведения пробы является поступление ксилозы в полость тонкой кишки, так как в связи с задержкой желудочного опорожнения могут быть отмечены низкие величины ксилозы в крови и моче, что приведет к неправильным выводам.

Результаты, полученные с использованием обоих тестов, хорошо коррелируют с данными, наблюдаемыми при стеаторрее. При спру тест (с введением 5 г) положителен в 95% случаев. Более того, он достаточно чувствителен к улучшению кишечной функции, что, как правило, отражается на увеличении экскреции ксилозы (Sheehy a. Floch, 1964).

Данные, полученные при оральном введении 25 и 5 г ксилозы в норме и при некоторых формах патологии, представлены в табл. 3.

Пробу с ксилозой желательно использовать для диагностики параллельно с другими пробами, особенно с исследованием кала. В такой комбинации она может представлять наибольшую ценность для клиницистов.

Метод определения свободных пентоз основан на образовании фурфурола в 83%-й уксусной кислоте, содержащей тиомочевину,

Таблица 3

Экскреция ксилозы с мочой в течение пятичасового периода. (По: Sheehy a. Floch, 1964, стр. 52 и 53)

Обследованная группа	Содержание ксилозы в моче (г)	
	при введении 25 г ксилозы	при введении 5 г ксилозы
Норма	5.7±1.4	1.8±0.3
Нелеченная форма спру	1.4±0.7	0.5±0.24
После лечения	3.5±1.3	1.1±0.4

при 70° и на реакции фурфурола с уксусным п-бромоанилином до окрашенного продукта. Колориметрия производится на фотоэлектроколориметре или спектрофотометре при длине волны 520 ммк (Roe a. Rice, 1948; Асатиани, 1965). Кроме того, существует метод, который основан на фотометрическом определении интенсивности цветной реакции, которую пентозы дают с растворами сульфгидрильных соединений в серной кислоте (Dische, 1949).

Проба с дисахаридами. При использовании тестов с введением дисахаридов (мальтозы, сахарозы и лактозы) необходимо учитывать то обстоятельство, что они являются косвенными показателями гидролитической способности кишечных клеток и, следовательно, их ферментативной активности. В связи с этим представлялось целесообразным рассматривать их также в разделе «Некоторые клинические аспекты мембранного пищеварения». Отметим лишь, что если на фоне нормального всасывания моносахаридов имеет место уплощение кривой при нагрузке дисахаридами, то следует делать вывод о том, что нарушена гидролитическая функция клеток кишечного эпителия. На этой основе строится дифференциальная диагностика нарушений всасывания и гидролиза углеводов.

В настоящее время известно, что существуют избирательные поражения ферментных систем, при которых возникают интолерантности к определенным видам пищевых веществ. Специфические ферментативные недостаточности встречаются как у взрослых, так и особенно часто в детском возрасте. В этом плане тест с дисахаридами представляет особый интерес.

Проба заключается в стандартной нагрузке дисахаридом, который дается в дозе 1 г (взрослым) или 2 г (детям) в расчете на 1 кг веса тела (Sheehy a. Floch, 1964). Анализ крови и мочи проводится натощак, а затем после соответствующей нагрузки через каждые 30 мин. в течение пятичасового периода. Подъем гликемической кривой на 50 мг% указывает на то, что как ферментные системы тонкой кишки, так и процессы всасывания не

нарушены. Если, однако, максимальный подъем будет менее 20 мг%, то это свидетельствует о нарушении кишечного всасывания или изменении ферментативной активности тонкой кишки. Для уточнения последнего обстоятельства и конкретного решения вопроса проба повторяется с добавлением фермента, недостаточность которого предполагается. Если гликемическая кривая при проведении второй пробы будет нормальной, то, следовательно, имеет место ферментативная недостаточность. При плоской кривой можно думать о синдроме малабсорбции. Это можно проверить тестом с использованием какого-либо моносахарида, который входит как составная часть в употреблявшийся ранее дисахарид. Однако следует отметить, что при тяжелых нарушениях тест может вызвать диаррею и резко ухудшить состояние больного.

Проба с крахмалом. О процессах гидролиза и всасывания углеводов в тонкой кишке можно судить при нагрузке крахмалом в сочетании с нагрузкой глюкозой. Физиологическая основа пробы заключается в том, что панкреатическая амилаза является одним из основных ферментов, необходимых для ассимиляции полисахаридов, так как осуществляет начальные этапы их гидролиза. В пробе сравнивается максимальный подъем уровня глюкозы крови после введения 100 г крахмала с максимальным подъемом глюкозы крови после орального введения последней также в количестве 100 г. Если подъем после нагрузки глюкозой на 100% больше такового при введении крахмала, то это указывает на нарушение функций тонкой кишки или на поражение поджелудочной железы и ее ферментативную недостаточность (Althausen a. Uyeyama, 1954).

Метод заключается в том, что 100 г крахмала растворяется при перемешивании в 150 мл воды. Затем эта смесь вливается в 300 мл кипящей воды, и после того, как раствор остынет, больной выпивает его натощак. Сахар крови исследуется натощак и через 30 мин., 1, 1.5, 2 и 3 часа после введения крахмала. Обычно проба со 100 г глюкозы проводится на другой день или за день до нагрузки крахмалом. Сахар крови исследуется так же, как и после введения крахмала, с определением его максимального подъема. Для расчета берется разница между уровнями сахара натощак и через определенный промежуток времени.

Величина около 100% указывает на дисфункцию тонкой кишки или поджелудочной железы. В норме обе гликемические кривые совпадают.

Как было отмечено ранее (обзоры: Уголев, 1963, 1965, 1966, 1967), поверхность кишечного эпителия обладает способностью адсорбировать панкреатическую амилазу, в связи с чем общая ферментативная активность последней резко возрастает. Основной гидролиз полисахаридов осуществляется за счет амилазы, связанной с клетками кишечного эпителия. Плоская гликемическая кривая при нагрузке крахмалом может таким образом ука-

зывать на нарушение сорбционных свойств поверхности кишки, что приводит к значительному снижению скорости гидролитических процессов и, следовательно, к замедлению поступления продуктов расщепления в кровь. Однако, так как неполный гидролиз крахмала может быть связан с панкреатической недостаточностью амилазы, то этот тест служит также показателем и панкреатической функции (Lechin, 1956).

Таким образом, нормальная кривая с глюкозой и плоская с крахмалом может указывать и на панкреатическую недостаточность (Ruffin, 1963; Kalser, 1964). Основное преимущество крахмальной пробы заключается в ее большей специфичности, чем тест с глюкозой (Kalser, 1964). Тем не менее могут возникать неточности и ошибки.

Необходимо отметить, что эта проба не всегда указывает на нарушение сорбционных свойств поверхности тонкой кишки или на панкреатическую недостаточность. Плоская гликемическая кривая при нагрузке крахмалом (с нормальной гликемической кривой при нагрузке глюкозой) может зависеть от нарушения ферментных систем группы мальтаз, обусловливающих конечные этапы гидролитического расщепления крахмала. Для окончательного решения вопроса необходима дополнительная нагрузка соответствующим дисахаридом. Если в этом случае будет наблюдаться плоская гликемическая кривая, то, следовательно, можно думать о существовании мальтазной недостаточности и патологии мембранного пищеварения.

В последнее время стала известна значительная роль глюкоамилазы (собственно кишечного фермента, синтезируемого кишечными клетками и действующего на их свободной поверхности) в гидролизе полисахаридов. Возможно, в ряде случаев уплощение гликемической кривой после нагрузки крахмалом может быть обусловлено нарушением механизмов синтеза или транслокации глюкоамилазы.

Плоская гликемическая кривая при нагрузке глюкозой свидетельствует о нарушениях резорбтивных функций тонкой кишки.

ГИДРОЛИЗ И ВСАСЫВАНИЕ БЕЛКОВ

Значение белков в метаболизме человека известно. В норме усваивается до 90—92% различных белковых продуктов. Без поступления в организм определенных аминокислот существование человека невозможно.

В желудке осуществляются кислотная денатурация белков (под влиянием соляной кислоты желудочного сока) и начальные стадии их расщепления (под действием пепсина). Как отмечено выше, основная часть белков подвергается гидролизу в тонкой кишке, причем олигопептиды (ди- и трипептиды) расщепляются преимущественно на внешней поверхности мембран кишечных

клеток ферментами, связанными с их структурами, т. е. за счет мембранного пищеварения (обзоры: Уголев, 1963, 1965, 1966, 1967).

Белки поступают в эпителиальные клетки в виде аминокислот при участии активного транспорта. Однако, по-видимому, с помощью этого механизма переносятся лишь моноамино- и монокарбоновые аминокислоты, диамино- и дикарбоновые аминокислоты не транспортируются против концентрационного градиента. Таким образом, при исследовании нарушений ассимиляции белков следует иметь в виду и дифференцировать несколько факторов: недостаточность белкового пищеварения в желудке, недостаточность панкреатических ферментов, нарушения мембранного пищеварения и изменение собственно резорбтивных процессов.

Для характеристики всасывания белков, а также дифференциации нарушений пищеварительных и резорбтивных процессов могут быть использованы методы, аналогичные методам исследования гидролиза и всасывания углеводов. Для этой цели используется ряд проб с определенными нагрузками.

Проба с аминокислотами. Для характеристики всасывания широко используются такие аминокислоты, как глицин и метионин.

Так, при пробе с глицином натощак (после голодания в течение 12 часов) вводится орально 50 г глицина и далее в продолжение 5 часов с интервалами в 30 мин. производится анализ крови для определения содержания в ней аминоазота. Максимальное количество аминоазота наблюдается через 1—2 часа и в среднем достигает в норме 4 мг% (Gutman a. Alexander, 1947; Беюл, 1961; Фролькис, 1964).

При исследовании резорбции метионина также натощак (после 12-часового голодания) вводится per os 5 г dl-метионина в таблетках или в виде 3%-го раствора из расчета 1 г на 15 кг веса тела. Кровь анализируется в течение 4 часов с интервалом в 30 мин. В плазме крови определяется l-изомер метионина микробиологическим методом. Повышение уровня метионина в норме наступает через 30—60 мин. в среднем на 40% (Harper a. Uyeyama, 1948; Беюл, 1961). Как и в случае с введением глицина, при нарушении или ослаблении кишечного всасывания эта величина снижается.

Проба с желатином. Тест основан на том, что при отсутствии панкреатических протеаз гидролиз белка до аминокислот не происходит.

Натощак вводится 1.2—1.75 г желатина (предварительно растворенного в теплой воде) на 1 кг веса тела. Пробы крови берутся перед нагрузкой (натощак), а также через 30 мин., 1, 2, 3, 4 и 5 часов (Anfanger a. Heavenrich, 1959).

Для определения уровня аминоазота крови может быть использован спектрофотометрический микрометод, требующий 0.2 мл капиллярной крови (Krauel, 1944). В норме через 2—

3 часа после введения нагрузки наблюдается повышение аминоазота по сравнению с уровнем натощак на 3 мг% (Kalser, 1964).

Плоская кривая связана с дисфункцией тонкой кишки (нарушением гидролитической способности кишечных клеток или процессов всасывания) или панкреатической недостаточностью. Повышенная кривая, по-видимому, не имеет существенного значения. При панкреатической недостаточности нарушение во всасывании аминокислот, вероятно, вызвано неполным гидролизом пептидных связей (Shingleton a. oth., 1955). По-видимому, измерение количества азота в кале после введения панкреатина может быть использовано как тест для дифференциации кишечной малабсорбции и панкреатической недостаточности.

Теоретически при панкреатической недостаточности количество азота должно быть меньше, чем при малабсорбции. Выведение азота в кале в количестве 5—7% от общего введенного азота считается отклонением от нормы (Gamble a. Wilbur, 1961). Однако Кук (Cook, 1958) считает, что увеличение азота в кале не является достоверным показателем панкреатической ферментативной недостаточности. Он отмечает, что это увеличение скорее отражает степень стеаторреи или воспаления кишечной слизистой, чем панкреатическую дисфункцию.

П р о б а с ж е л а т и н о м и к с и л о з о й. Известно, что нарушения в пищеварении и всасывании белков могут быть связаны с малабсорбцией. Для дифференциальной диагностики преимущественных поражений тонкой кишки, включая указанный синдром, и поджелудочной железы предложен тест, в котором проба с d-ксилозой, служащая показателем одного из аспектов всасывания, сочетается с нагрузкой желатином (Theil a. oth., 1963).

Ранее было показано, что вслед за оральным введением желатина происходит отчетливое всасывание пептидов, содержащих иминокислоту гидроксипролин, и быстрое выведение указанных белковых фрагментов с мочой (Marks a. Tompsett, 1958; Prockop a. oth., 1962). Это позволило использовать желатиновый белок, в котором довольно много гидроксипролина, в качестве субстрата, а появление гидроксипролина в моче — как показатель функциональной панкреатической триптической активности.

Вначале на фоне безжелатиновой диеты в течение 24 часов исследуется выделение с мочой гидроксипролина, как в виде свободной кислоты, так и связанного с пептидными телами (Prockop a. Udenfried, 1961). В норме выводится за сутки 39.4 мг, т. е. около 1.5±0.46 мг в час. После того как у обследуемого устанавливается контрольный уровень гидроксипролина, ему вводится 28 г желатина (детям 14 г) в комбинации с 5 г d-ксилозы. В нормальных условиях у здоровых людей после нагрузки желатином выделение гидроксипролина с мочой увеличивается до 7.7 мг в час. Падение уровня гидроксипролина после нагрузки ниже

3.3 мг в час считается отклонением от нормы. Для уточнения диагноза необходимо проанализировать результаты, полученные после нагрузки d-ксилозой (см. раздел «Гидролиз и всасывание углеводов»).

П р о б ы с м е ч е н ы м и б е л к а м и. Для характеристики переваривания и всасывания белков широкое применение нашли нагрузки, в которых одна из аминокислот белковой молекулы отмечается радиоактивным иодом (J^{131}). В этом случае скорость гидролиза и всасывания определяется по накоплению радиоактивной метки в моче или крови (в норме в кале наблюдается менее 5% введенной радиоактивности — Chinn a. oth., 1952).

Применение белков, меченных радиоактивными изотопами, не является безразличным для организма и должно проводиться с большой осторожностью. При использовании белков, меченных иодом (J^{131}), следует перед нагрузкой в течение нескольких дней давать раствор Люголя для блокирования щитовидной железы. В ряде случаев меченый белок применяется в сочетании с нерадиоактивным белком того же типа. Как правило, в качестве меченого белка употребляется казеин или белок сыворотки крови — альбумин.

Для использования указанных выше белков был предложен следующий метод (Chinn a. oth., 1952; Baylin a. oth., 1955). Пробный завтрак состоит из некоторого количества белка (альбумина или казеина), содержащего в своем составе J^{131} с суммарной радиоактивностью в 50 мккюри, 0.5 г желатина в расчете на 1 кг веса тела и 225 мл воды с 20 г сульфата бария. Радиоактивность крови исследуется натощак, а затем через 1, 1.5, 2 и 3 часа после нагрузки. Я. Горжейши (1967) рекомендует вместе с альбумином, меченным J^{131}, для исключения возможности задержки иода щитовидной железой одновременно вводить иодистый калий. В норме уровень радиоактивности крови повышается на 10—14%. Бо́льшая радиоактивность, по-видимому, не имеет диагностического значения. Плоская кривая радиоактивности крови свидетельствует о нарушении кишечной фазы переваривания и всасывания белков или панкреатической недостаточности.

Андришек (Andrysek, 1963) использовал сывороточный альбумин, меченный J^{131}, с введением внутрь ионнообменных смол для диагностики секреторных нарушений кишечника.

Казеин, меченный J^{131}, может быть применен не только для изучения пищеварительных функций и синдрома недостаточности всасывания, но также для исследования больных после резекции желудка и заболеваний поджелудочной железы (Afifi a. oth., 1963). Больные получают смесь из казеина с радиоактивностью в 50—100 мккюри, 30 г инертного казеина и небольшое количество кофе. Затем измеряется радиоактивность эритроцитов и плазмы, а также суточного количества мочи и кала. В норме выделение с мочой и поглощение щитовидной железой составляет 79±11%

введенной радиоактивности, выделение с калом — 2.3±13%. Радиоактивность плазмы через 30 мин. после приема пробного завтрака — 2.5±0.8% на 1 л и 0.6±0.35% — через сутки. При патологических изменениях тонкой кишки эта величина значительно снижается.

При поражениях поджелудочной железы радиоактивность плазмы не более 2% принятой дозы на 1 л и исчезает через сутки; выделение с калом повышено, тогда как выведение с мочой и поглощение щитовидной железой снижены.

Гордон (Gordon, 1958, 1959) предложил новый метод, который некоторые авторы (Фрумузан, 1961; Sheehy a. Floch, 1964, и др.) рекомендуют включать в число методов функционального исследования тонкой кишки (проба Гордона).

Суть метода заключается в способности ряда белковых веществ проникать из крови в полость тонкой кишки. В норме подобная экскреция белков чрезвычайно мала, однако при структурных изменениях тонкой кишки — значительно увеличивается.

Гордон заменил альбумин, меченный J^{131}, поливинилпирролидоном (относительно стабильным препаратом со средним молекулярным весом около 40 000, молекулярный вес данного вещества колеблется в диапазоне 15 000—117 000). Это было вызвано решением выявить поступление альбумина из крови в полость кишечника при некоторых патологических состояниях. Поливинилпирролидон может быть использован в качестве заменителя альбумина, так как размеры его макромолекулы близки к размерам молекулы альбумина и, кроме того, он не опасен для употребления в клинике.

Поливинилпирролидон, меченный J^{131}, вводится внутривенно в безвредной дозе (10—50 мккюри). Щитовидная железа предварительно блокируется приемом внутрь простого иода. Радиоактивность испражнений определяется в течение следующих 4 дней сцинтилляционным счетчиком. В норме выделение J^{131}-поливинилпирролидона, выраженное в процентах по отношению к введенной дозе, не превышает в сумме 1.5% за 4 дня. При патологических изменениях в тонкой кишке его количество возрастает до 5, 10 и даже 20%.

Леви и др. (Levy a. oth., 1958) для изучения нарушений процессов всасывания белков предложили вводить больным l-метионин-S^{35} с радиоактивностью от 20 до 50 мккюри и затем исследовать появление этого вещества в крови, моче и кале. В связи с тем, что в норме и патологии уровень l-метионина-S^{35} в крови почти одинаков, то клиническое значение имеет тест выведения его с калом. В норме количество меченой аминокислоты в кале около 7%. Увеличение наблюдается при регионарных энтеритах, язвенных колитах и в 65% случаев при активной дуоденальной язве. Интересно отметить, что при внутривенном введении l-метионина-S^{35} радиоактивность в кале не обнаруживается.

На основании всего вышеизложенного можно считать, что методы с определением метки в крови, моче и кале позволяют довольно точно характеризовать функциональное состояние кишечника.

Нарушения во всасывании и гидролизе белков могут иметь место не только при болезнях, связанных с малабсорбцией, но также при нарушениях во всасывании и выведении жиров (Gamble a. Wilbur, 1961).

ГИДРОЛИЗ И ВСАСЫВАНИЕ ЖИРОВ

В среднем дневное потребление жира составляет 100—150 г, однако оно может значительно варьировать (от 15 до 400 г). Бо́льшую часть жиров пищи составляют нейтральные жиры, в которых отмечается большое разнообразие жирных кислот и их комбинаций. Тем не менее подобные вариации не существенны, так как тонкая кишка, ее пищеварительный и резорбтивный механизмы, адаптированы к утилизации по крайней мере 95% поступающих жиров (Sheehy a. Floch, 1964).

Значительную роль в гидролизе жиров играет желчь, осуществляющая эмульгирование жиров и активирующая панкреатическую липазу. В полости тонкой кишки панкреатическая липаза поэтапно отщепляет жирные кислоты и приводит последовательно к образованию ди- и β-моноглицеридов, а также свободных жирных кислот. Чрезвычайно важную роль в гидролизе триглицеридов играют ферментные системы поверхности тонкой кишки, которые образованы адсорбированной из полости панкреатической липазой и собственно кишечным ферментом — моноглицеридлипазой. Последняя синтезируется клетками кишечного эпителия и далее транслоцируется на поверхность, включаясь в состав их мембран, где осуществляет заключительные стадии гидролиза триглицеридов (Уголев, 1967).

Как отмечалось ранее, у человека полностью расщепляется до 60% триглицеридов, основными конечными продуктами которых являются жирные кислоты и β-моноглицериды, которые постепенно переходят в мицеллярное состояние и всасываются в такой форме (Hoffman a. Borgstrom, 1964). Жирные кислоты с длинными цепями в слизистой тонкой кишки вновь эстерифицируются и поступают в лимфу в виде хиломикронов. Напротив, короткоцепочные жирные кислоты не подвергаются ресинтезу и поступают в кровь воротной вены (Clement, 1964; Wiseman, 1964). Значительное всасывание жира происходит только в тонкой кишке, преимущественно в ее проксимальной части (Borgstrom a. oth., 1963).

Существует значительное число работ, позволяющее характеризовать гидролиз и всасывание липидов. При недостаточности кишечной фазы переваривания и резорбции жиров, наблюдаю-

щейся в связи с различными патологическими состояниями, представляет интерес количественное определение жиров в кале. Здесь мы не будем останавливаться на химических методах определения жира в испражнениях, так как их принципы изложены в разделе «Методы исследования кала».

Проба с нагрузкой жиром. В ряде случаев при определении всасывания жиров пользуются подсчетом хиломикронов (жировых капелек, окруженных липопротеидной мембраной) под микроскопом после пробного завтрака. В норме в стандартном освещенном фоне наблюдается не менее 120 частиц. При ряде заболеваний пищеварительного аппарата количество их резко снижено и кривая уплощена (Gamble a. Wilbur, 1961).

Сравнительно недавно Каблер и др. (Kabler a. oth., 1959) предложили несложную модификацию метода, в котором регистрируются изменения оптической плотности сыворотки крови, вызванные увеличением числа хиломикронов после пробного завтрака. Для этого после взятия пробы натощак (сыворотка используется в качестве контроля) испытуемый получает завтрак, содержащий 0.5 г масла на 1 кг веса тела, сухой хлеб, фруктовый сок и черный кофе (без сахара). Пробы сыворотки крови исследуются в течение 5 часов с интервалом в 1 час в спектрофотометре (при длине волны в 620 ммк) для определения ее оптической плотности. Увеличение оптической плотности больше чем на 0.1 ммк в каждой пробе тестируется как норма (Gardner a. Perez-Santiago, 1956; Kabler a. oth., 1959).

Тест отклоняется от нормального уровня при идиопатической стеаторрее, малабсорбции жира, связанной с обструкцией желчного протока, панкреатической недостаточности. Однако следует отметить, что тиреотоксикоз и тяжелые поражения печени могут уменьшать «мутность» сыворотки, давая ложный результат.

После стандартного завтрака также в сыворотке крови может быть определено содержание общих липидов (Adlersberg a. Sobotka, 1941; Беюл, 1961). Для этого после взятия контрольной пробы крови дается завтрак, состоящий из 1.0 мл жира (или 40% сливок) в расчете на 1 кг веса тела, чашки чая и куска белого хлеба. Общие липиды исследуются в сыворотке крови в течение 5—6 часов каждые 30 мин. В нормальных условиях максимальный подъем (в среднем около 50%) наблюдается через 4—5 часов после нагрузки.

Проба с холестерином. Холестерин, ненасыщенный стерин, может быть обнаружен в крови в виде свободной формы или эфира жирных кислот. В норме содержание общего холестерина в крови варьирует в диапазоне 160—230 мг%. В сыворотке крови общий холестерин и его эфиры определяются достаточно точными методами (Schoenheimer a. Sperry, 1934; Zak a. oth., 1954; Дерецкий, 1965). Содержание холестерина в сы-

воротке крови натощак колеблется от 150 до 250 мкг%, причем эфирная фракция составляет 55—75% общей.

На уровень холестерина сыворотки крови различные диеты не оказывают влияния; как правило, содержание его остается в пределах нормы. Депрессия уровня холестерина наблюдается при нарушении всасывания, тропической и нетропической формах спру (Sheehy a. Floch, 1964), тем не менее на фоне снижения общего холестерина процент эфиров остается нормальным. Следует отметить, что при некоторых поражениях паренхимы печени абсолютное количество холестерина также может быть снижено, но в этом случае значительно падает также и эфирная фракция. Повышение содержания холестерина в сыворотке крови, по-видимому, к дисфункции тонкой кишки отношения не имеет.

Пробы с радиоактивным жиром. Использование изотопов в клинической практике становится все более популярным. В настоящее время получили широкое распространение методы изучения переваривания и всасывания жиров с применением радиоактивных изотопов (как правило, J^{131}). Было показано, что жир, отмеченный иодом, ведет себя так же, как жир пищи. Общая радиоактивность крови достаточно хорошо отражает уровень жира после введения пробного завтрака. Скорость клиренса жира, отмеченного иодом, такая же, как у неотмеченного. Оба жира, как отмеченный, так и неотмеченный, равным образом участвуют в процессах обмена (Kalser, 1964).

Таким образом, метод с использованием радиоактивного жира является достаточно ценным в клинической диагностике дефектов пищеварительных и резорбтивных процессов. Прежде всего определяется доза радиоактивного субстрата, затем рассчитывается общее количество радиоактивного вещества в крови и кале и его процент от введенной дозы. Результат выражается в процентах от введенного материала. Как правило, в этих пробах исследуется радиоактивность крови и кала. От измерения радиоактивности в моче пришлось отказаться в связи с вариабильностью результатов и зависимостью их от обмена. В большинстве методов кровь берется через определенные промежутки времени после введения отмеченного жира. Максимальная радиоактивность крови наблюдается в интервале от 3 до 6 часов. В ряде случаев исследуется радиоактивность крови за несколько часов. Обычно вводится незначительное количество эмульсии триолеина или олеиновой кислоты, меченных J^{131}.

Пробы с J^{131}-триолеином. Этот тест может применяться для изучения кишечной фазы переваривания и всасывания, для определения панкреатических функций и активности липазы, действующей как в полости тонкой кишки, так и на ее поверхности. Для блокирования щитовидной железы от радиоактивного иода в течение 2 дней до пробного завтрака вводится три раза в день по 10 капель раствора Люголя. В день пробного

завтрака каждому обследуемому с утра должно быть дано 7 г кармина для отметки стула.

Пробный завтрак из триолеина, содержащего в своем составе J^{131} активностью от 25 до 100 мккюри, вводится орально вместе с 0.5 мл арахисового или оливкового масла на 1 кг веса тела. Предварительно в пробном завтраке, инградиенты которого хорошо перемешаны, определяется радиоактивность. Пробы венозной крови в количестве 7 мл берутся с интервалами в 3, 4, 6 и 9 часов после пробного завтрака, причем в каждой из них определяется радиоактивность. Всасывание считается нормальным, если 10 или более процентов введенной радиоактивности появляется в крови до 6 часов. Сбор кала проводится в течение 48—96 часов. В норме за 48 часов с калом выделяется только 2—5% поглощенной радиоактивной дозы (Фрумузан, 1961; Gamble a. Wilbur, 1961; Hightower, 1963; Ruffin, 1963; Con, 1963; Фролькис, 1964; Sheehy a. Floch, 1964).

Необходимо иметь в виду, что тест с триолеином значительно менее точен, чем химическое определение жира в кале (Kalser, 1964). Однако он может оказать помощь в диагностике дисфункций тонкой кишки, стеаторреи и, несмотря на свои относительные недостатки, может быть использован для оценки всасывания липидов при синдроме малабсорбции.

Проба с J^{131}-олеиновой кислотой. Проба проводится аналогично пробе с J^{131}-триолеином с такой же нормой. Теоретические преимущества олеиновой кислоты заключаются в том, что для ее всасывания не требуется предварительного гидролиза липазой. Таким образом, всасывающая способность слизистой может быть измерена прямым путем.

Недостаточность всасывания олеиновой кислоты свидетельствует о наличии синдрома малабсорбции. Кроме того, проба дает возможность обнаружить нарушение кишечного всасывания при спру, регионарных энтеритах и т. д. (Hightower, 1963; Ruffin, 1963; Kalser, 1964). Однако клиническое применение теста ограничено. Пимпаркар (Pimparkar, 1960) сообщил, что из 10 больных идиопатической стеатореей 5 имели нормальный уровень радиоактивности в крови и кале после введения J^{131}-олеиновой кислоты, тогда как химическим анализом у всех 10 человек была выявлена стеаторрея.

Проба с J^{131}-триолеином и J^{131}-олеиновой кислотой. Каплан и др. (Kaplan a. oth., 1958) предложили комбинированный метод применения меченных J^{131} триолеина и олеиновой кислоты. В этой пробе проводится сравнение всасывания и общего выведения вышеуказанных липидов. Проба дает возможность дифференцировать нарушение процессов переваривания, вызванное панкреатической недостаточностью (уменьшением или отсутствием панкреатической липазы), и нарушение резорбтивной способности кишки (табл. 4).

В первом случае при введении J^{131}-триолеина уровень радиоактивности в крови должен быть ниже нормы, а в кале — выше; выведение и всасывание J^{131}-олеиновой кислоты останутся без изменений. При дефектах всасывания радиоактивность в кале будет заметно увеличена как при введении J^{131}-триолеина, так и J^{131}-олеиновой кислоты. Уровень радиоактивности крови также будет отклоняться от нормы (Фрумузан, 1961; Gamble a. Wilbur, 1961; Kalser, 1964; Sheehy a. Floch, 1964).

Таблица 4

Изменение радиоактивности в крови и кале после введения J^{131}-триолеина и J^{131}-олеиновой кислоты при нарушении процессов пищеварения и всасывания. (По: Sheehy a. Floch, 1964, стр. 58)

Нагрузка	Нарушение процессов переваривания		Нарушение процессов всасывания	
	кровь	кал	кровь	кал
J^{131}-триолеин	Снижение	Увеличение	Снижение	Увеличение
J^{131}-олеиновая кислота	Без изменения	Без изменения	»	»

Однако при использовании указанных тестов необходимо учитывать то обстоятельство, что в гидролизе триолеина принимает участие как панкреатическая липаза, действующая в полости тонкой кишки и сорбированная на ее поверхности, так и моноглицеридлипаза, фермент, структурно связанный с мембранами кишечных клеток. Следовательно, низкий уровень радиоактивности при введении триолеина может быть обусловлен патологией мембранного пищеварения, а именно: нарушением способности кишки к адсорбции липазы, что значительно снижает ее активность, или нарушением ферментных систем, осуществляющих конечные стадии гидролиза липидов.

Пробы с витамином А и каротином. Метод меченных J^{131} липидов часто довольно ограничен в применении вследствие нежелательности введения в организм изотопов. С этой точки зрения заслуживают внимания методы определения всасывания жиров по всасыванию витамина А.

Относительно резорбции жирорастворимых витаминов известно очень немного. Наибольшая информация относится к витамину А. В эмульгировании, гидролизе и всасывании природных источников витамина А, введенных вместе с рыбьим жиром, принимают участие желчные соли и, по-видимому, панкреатическая липаза. Однако вопрос о роли липолитических ферментов остается спорным (Gamble a. Wilbur, 1961; Sheehy a. Floch, 1964). В крови приблизительно 80% витамина А находится в форме спирта и 20% — в форме эфира.

Некоторые авторы рекомендуют исследовать исходную концентрацию витамина в сыворотке крови натощак (Sheehy a. Floch, 1964), другие, напротив, отмечают, что его уровень в этот период не может быть использован как показатель, так как основная часть витамина находится в печени в виде запаса и концентрация натощак фактически может отражать затянувшееся поступление его в кровь или незначительный запас в организме.

Принцип тестов, приведенных ниже, основан на том, что витамин А растворим в жирах и легко всасывается вместе с ними кишечной слизистой. В связи с тем что в методах измерения обнаруживаются различия в количестве витамина А, норма будет зависеть от способа исследования.

Чесни и Мак-Курд (Chesney a. McCoord, 1934; Беюл, 1961) определяли содержание в сыворотке крови витамина А после введения per os оливкового масла. Исследование проводилось через 2, 4, 6, 9, 12 и 24 часа. Максимальная концентрация наблюдалась через 4 часа и превышала исходный уровень при нормальных условиях в 9 раз.

Адлерсберг и Соботка (Adlersberg a. Sobotka, 1941; Беюл, 1961) определяли содержание витамина А после специального пробного завтрака, состоящего из бергамотового масла, чашки чая и куска белого хлеба. Кровь исследовалась натощак и спустя 4 часа после нагрузки.

При введении различных нагрузок, содержащих в 1 мл 60 000, 90 000 и 600 000 МЕ витамина А, уровень его в сыворотке крови в норме возрастает в среднем на 53, 77 и 300% соответственно.

Гамбл и Вилбур (Gamble a. Wilbur, 1961) рекомендуют после введения стандартной дозы в 180 000 МЕ витамина А в масле определять его уровень в крови через 4, 6 и 8 часов методом, предложенным Кимблом (Kimble, 1939). В этом случае в норме наблюдается подъем уровня витамина А в сыворотке крови в 2—3 раза по сравнению с его уровнем натощак.

Можно использовать также oleum percomorphym из расчета 0.25 мл на 1 кг веса тела. Кровь исследуется через 3 и 5 часов после приема витамина (Ruffin, 1963). Норма натощак — 50—60 мкг, через 5 часов — 400—500 мкг (Legerton a. oth., 1953).

Шихи и Флоч (Sheehy a. Floch, 1964) предлагают несколько иной метод. Прежде всего определяется натощак первоначальный уровень витамина А в сыворотке крови. Затем орально вводится 300 000 ед. этого витамина (или 5 мл oleum percomorphym). Пробы сыворотки исследуются через 5 и 7 часов после указанной нагрузки. В норме содержание витамина натощак колеблется в диапазоне 30—90 мкг%. Если не рассматривать максимальный подъем, то нижняя граница при нормальных условиях составит приблизительно 125—160 мкг% (Gardner a. Perez-Santiago, 1956; Perman a. oth., 1960). Уровень натощак ниже 20 мкг% рассматривается как отклонение от нормы. Плоская кривая наблюдается при умень-

шении степени переваривания и всасывания жира. Соотношение между жировым балансом показало, что кривая уплощается при падении всасывания жира до 75% (Legerton a. oth., 1953). Кроме того, на характер кривой оказывает влияние состояние печени, так как при поражениях последней уменьшается запас витамина А. Замедленный подъем может быть вызван не только дисфункцией тонкой кишки и синдромом малабсорбции, но также пролонгированным желудочным опорожнением.

Для химического определения концентрации витамина А Шихи и Флоч (Sheehy a. Floch, 1964) рекомендуют применять метод Карр—Прайса (Consolazio a. oth., 1951) и спектрофотометрический метод с использованием 0.06 мл крови (Bessey a. oth., 1946).

Многие факторы, требующиеся для всасывания жира, также необходимы для всасывания провитамина А — каротина. Каротин (β-каротин) — основной источник витамина А. Как кишечная слизистая, так и печень человека способны превращать каротин в витамин А (основное место трансформации — тонкая кишка).

В норме уровень каротина в сыворотке крови по одним данным — 70—282 мкг%, по другим — 60—200 мкг% (Gamble a. Wilbur, 1961; Ruffin, 1963; Sheehy a. Floch, 1964).

Для дифференциации недостаточности переваривания и нарушения всасывательной способности слизистой, которые приводят к низкому уровню каротина, Венгер и др. (Wenger a. oth., 1957) вводили орально 20 000 ед. каротина в масле в течение недели ежедневно. При нарушенном всасывании содержание каротина в сыворотке крови остается низким.

Определение каротина в сыворотке можно проводить колориметрическим спектрофотометрическим методом (Kimble, 1939) или методом Карр—Прайса (Consolazio a. oth., 1951). Однако этот тест применяется с осторожностью, так как нормальный или повышенный уровень каротина в сыворотке может наблюдаться также и в случаях слабого нарушения всасывания (Adlersberg a. oth., 1957).

ПРОБЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ РЕЗОРБТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ В ТОНКОЙ КИШКЕ

Для изолированного исследования резорбтивных процессов существует ряд проб, принцип которых заключается во введении веществ, не подлежащих ферментативной обработке в тонкой кишке (так же, как в случаях с глюкозой, d-ксилозой и т. д.).

К. М. Простяков и Е. А. Беюл (1957) предложили вводить радиоактивный иод через зонд и определять его появление над областью щитовидной железы. Беюл (1961) отмечает, что эта проба дает наиболее достоверные результаты при изучении всасывания.

Однако следует учитывать, что при портальной гипертензии появление иода может быть замедлено за счет задержки его поступления в кровь.

Некоторые авторы (Лещинский и Рябов, 1959; Губергриц, 1964, и др.) рекомендовали проводить в клинических условиях комплексное исследование всасывания в верхних отделах тонкой кишки и предложили ряд проб: иодкалиевую пробу, пробу на всасывание радиоактивного изотопа J^{131} и радиофосфора P^{32}, вводимых в индикаторных дозах, и эфирную пробу.

Иодкалиевая проба. Проба является относительно простым методом определения всасывающей способности кишечника. Больной натощак выпивает 0.25 г иодистого калия, разведенного в 50 мл воды, и запивает его 200 мл воды. Появление иода в слюне отмечается положительной реакцией с крахмалом (к 1 мл слюны добавляется 2 мл 10%-го раствора крахмала). В течение первых 12 мин. слюна собирается через каждые 2 мин., далее в продолжении 40—60 мин. — с интервалом в 5 мин.

Эта же проба может быть проведена с введением иода непосредственно в двенадцатиперстную кишку. В последнем случае через дуоденальный зонд вводится 20 мл 2%-го раствора иодистого калия. Иод в слюне появляется в норме примерно через 3—5 мин. При патологических процессах в тонкой кишке это время увеличивается (Лещинский и Рябов, 1959; Беюл, 1961; Губергриц, 1964).

В клинике профессора С. М. Рысса профессор Ц. Г. Масевич и Э. А. Забелинский несколько модифицировали указанную пробу и вначале предложили вводить через дуоденальный зонд 10 мл 3%-го раствора иодистого калия с последующим определением времени появления иода в слюне. В норме реакция становится положительной через 5—6 мин. Однако авторами было установлено, что время появления иода в слюне относительно стабильно и увеличивается лишь в крайне тяжелых состояниях. Более дифференцированные результаты получаются при введении через зонд 10 мл 0.3%-го раствора иодистого калия в верхний отдел тощей кишки. В этих случаях нормальным следует считать появление иода в слюне через 5—7 мин. При патологических изменениях в тонкой кишке отмечается задержка положительной реакции до 40 мин. (для проведения теста используются 5 капель концентрированной соляной кислоты и 5 капель 1%-го раствора растворимого крахмала).

Следует отметить, что вместо введения раствора иода per os или через зонд можно рекомендовать принимать его в особых капсулах из желатина.

Однако указанная проба с использованием иодистого калия в качестве теста всасывания не лишена недостатков, так как на скорость выделения иода со слюной может оказывать влияние функциональное состояние слюнных желез (Беюл, 1961).

Проба на всасывание радиоактивных изотопов. Радиоактивный иод (J^{131}) в виде водного раствора в дозе 1—2 мккюри вводится через дуоденальный зонд в двенадца-

типерстную кишку. Затем вслед за введением 10 мл указанного раствора зонд промывается еще 10 (20) мл дистиллированной воды для смывания остатков радиоактивного вещества с его стенок и извлекается. Появление радиоактивного иода в щитовидной железе обнаруживается с помощью гамма-щупа, соединенного со счетной установкой Б-2. В момент введения иода включается секундомер. Подсчет импульсов производится в течение минуты через такой же интервал на протяжении 30 мин., а затем при необходимости в продолжение часа и далее через 2 и 24 часа. Последние два показателя характеризуют функцию щитовидной железы, первые — общий радиационный фон. Время стойкого увеличения количества импульсов является показателем начала процессов всасывания и поступления иода из полости тонкой кишки в кровь. В норме это время колеблется в пределах 3—8 мин. Принципиально проба тождественна предыдущей, однако обладает большей точностью, так как меченый иод в этом случае определяется счетчиком. Вместе с тем она требует специальной аппаратуры, определенного опыта и значительной затраты времени.

Радиоактивный фосфат вводится аналогично радиоактивному иоду и затем определяется с помощью торцевого счетчика, установленного над боковой поверхностью шеи.

Заканчивая изложение этого раздела, следует подчеркнуть, что полная функциональная характеристика переваривания и всасывания в тонкой кишке не может быть сделана на основании нагрузки одним из пищевых веществ, так как сейчас хорошо известны случаи, когда нарушается переваривание одной группы веществ, например жиров, и сохраняется нормальным переваривание углеводов и белков. Более того, нередки случаи специфической интолерантности одной группы пищевых веществ. Например, в ряде случаев нарушается переваривание сахарозы без заметных нарушений переваривания и всасывания других углеводов. В частности, некоторые авторы наблюдали взрослых и детей с нарушениями, вызванными недостаточностью отдельных дисахаридаз. Эти нарушения приводили к диарее, которая быстро исчезала при добавлении соответствующих недостающих ферментов или при исключении из диеты определенного сахара (Weijers a. oth., 1960; Jeffries a. oth., 1964; Holzel, 1965; Littman a. Hammond, 1965; Dahlqvist, 1965a, 1965b, и др.).

Следует отметить, что существует тесная функциональная взаимосвязь между тонкой кишкой и другими органами пищеварительного тракта (желудком, поджелудочной железой, печенью, желчевыводящей системой). В связи с этим в условиях патологии наиболее часто встречаются сочетанные синдромы, объединяющие в себе как симптоматику, указывающую на поражение тонкой кишки, так и ряд симптомов, связанных с функциональными нарушениями других органов пищеварения (например, желудочно-кишечный синдром, кишечно-поджелудочный синдром и т. д.).

Наконец, к особенностям патологии тонкой кишки следует отнести и возможность ее поражения при ряде общих заболеваний. Так, причиной патологических (функциональных и морфологических) изменений тонкой кишки могут быть эндокринные нарушения (тиреотоксикоз, болезнь Аддисона) или нервные расстройства.

Указанные особенности патологии кишки требуют в каждом конкретном случае уточнения характера и степени ее поражения. Эта задача значительно облегчается при использовании лабораторных методов исследования.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕКОТОРЫХ ФУНКЦИЙ ТОНКОЙ КИШКИ С ПОМОЩЬЮ КИШЕЧНЫХ ЗОНДОВ (МЕТОД ИНТУБАЦИИ КИШЕЧНИКА)

Кроме методов исследования, изложенных выше, существует еще целый ряд методических приемов, применяемых для изучения функций тонкой кишки. Одни из них связаны с извлечением кишечного содержимого (метод интубации), другие — с исследованием кусочков слизистой, полученных с помощью аспирационной биопсии, и т. д.

Кишечное содержимое может быть получено с помощью специальных тонких зондов. В последнем случае следует учитывать, что в составе кишечного содержимого могут быть примеси из вышележащих отделов тонкой кишки.

Интубация тонкой кишки преследует две цели: с одной стороны — извлечение кишечного содержимого и дальнейший его анализ, с другой — введение в определенный сегмент кишки соответствующих растворов с последующей их аспирацией для расчета степени гидролитической обработки или всасывания.

Благодаря развитию техники интубации стало возможным изучать не только содержимое тонкой кишки и всасывающую способность слизистой, но также различные секреторные процессы, моторную функцию желудочно-кишечного тракта и т. д.

Мы позволим себе привести несколько примеров использования метода интубации в клинических условиях и для экспериментальных целей.

Для большинства обследований в клиниках можно использовать зонд Миллера и Аббота (Miller a. Abbot, 1934), который сделан из резины с добавлением специального материала, видимого при флюороскопии. Длина зонда около 305 см, но может быть увеличена за счет металлических секций. Трубка зонда содержит два отдельных канала, или полости, меньший из которых служит для надувания воздухом особых баллонов, а больший — для аспирации кишечного содержимого или для введения различных субстратов. Зонд вводится в кишечник вместе с двумя резиновыми баллонами, находящимися на определенном расстоянии друг

от друга. При раздувании баллонов отделяется сегмент кишки, из которого может быть извлечено его содержимое или введен тестируемый субстрат. В последнем случае содержимое извлекается для его анализа через определенный промежуток времени.

Существует множество модификаций трубки Миллера и Аббота. В частности, Харрис (Harris, 1944) предложил для облегчения проникновения зонда в нижние отделы кишечника к наконечнику трубки прикреплять небольшой мешочек со ртутью. Для бактериологического исследования проб дуоденального сока Томениус (Tomenius, 1949) применил специальную трубку с особым наконечником. Полиэтиленовую трубку в качестве зонда с металлической чашечкой на конце использовали Матцнер и др. (Matzner a. oth., 1952). Гилман и Абрамс (Gilman a. Abrams, 1956) вводили трубку-баллон для аспирации при общей анастезии.

Зонды, содержащие более двух каналов, предназначены, как правило, для экспериментальных целей. Отверстия, сделанные в отдельных каналах, расположены на разных расстояниях, что дает возможность забирать пробы на определенных уровнях кишечника.

Зонд особой конструкции, построенный по типу двухпросветной трубки (с баллоном) длиной в 350 см, был предложен А. А. Уманским (1949). Этот зонд может быть применен для исследования нижних отделов кишечника и введен приблизительно на 250 см. Зонд позволяет анализировать содержимое различных отделов кишки, изучать ее флору, pH и т. д.

Бланкенхорн и др. (Blankenhorn a. oth., 1955) вводили полиэтиленовую эластическую трубку таким образом, чтобы можно было измерить расстояние до той области кишечника, откуда извлекалась проба, и исследовать ее анатомическую локализацию.

Описание нового прибора для взятия проб из любого отдела желудочно-кишечного тракта представили Шинер и ее сотрудники (Shiner a. oth., 1963). Прибор состоит из капсулы размером 21×10 мм, в которой имеется специальная камера для пробы, и трубочки, на другой конец которой надевается шприц. Перемещение поршня шприца дает возможность засасывать в капсулу содержимое кишечника. Капсула вводится в желудок в строго асептических условиях, и ее дальнейшее продвижение контролируется флюороскопически.

На основе прибора Миллера и Аббота выполнен целый ряд различных инструментов для введения их в кишечник: прибор для регистрации внутриполостного давления, термопара, электроды для измерения pH и т. д.

Выше приведены некоторые методические приемы, позволяющие извлекать кишечное содержимое из различных отделов тонкой кишки для последующего его анализа. Однако, как упоминалось, существуют сходные приемы, с помощью которых можно проводить

исследование после введения соответствующих пробных завтраков или тестируемых субстратов.

Многоканальные зонды с двумя баллонами для обтурации одного или двух сегментов кишки могут быть использованы при исследовании изменений, происходящих в известном объеме и концентрации введенного в них раствора. Мачелла (Machella, 1964) рекомендует технику, развитую Николсоном и Чорноком (Nickolson a. Chornock, 1942). Авторы предложили использовать трубку длиной 90 см, состоящую из двух каналов, больший из которых соединен с сосудом для сбора проб, а меньший — с сосудом Мариотта. К нижней части большего канала прикреплен дуоденальный зонд длиной 55 или 110 см со множеством засасывающих отверстий на 10 дистальных сантиметрах. Тестируемый субстрат вводится через меньший канал со скоростью 10 мл/мин. и проникает в проксимальную часть кишечного сегмента. Аспирация пробы осуществляется большим каналом, через который проводится постоянное опорожнение кишки от ее содержимого. Необходимо отметить, что скорость удаления веществ из кишечника должна быть больше возможной скорости их накопления.

Исследование начинается с аспирации содержимого тонкой кишки, период которой равен времени последующей перфузии пробным раствором. Примерно через час перфузия резко прекращается, вслед за чем немедленно вводится 30%-й раствор сернокислых магния или натрия ($MgSO_4$ или Na_2SO_4) с частицами угля. При введении гипертонического раствора в силу разности осмотических давлений наблюдается поступление жидкости из крови в полость кишки, что делает этот раствор изоосмотическим. Увеличение объема содержимого кишки вызывает вымывание всех пробных веществ, которые появляются в сосуде для их сбора в течение 1—4 мин., как показывает присутствие частиц угля.

Непосредственно вслед за раствором сернокислого магния (или натрия) в верхний конец сегмента в течение 30 мин. вливается вода со скоростью 10 мл/мин. Жидкость собирается 10-минутными фракциями. Результаты, полученные авторами при исследовании всасывания 10%-го раствора глюкозы, показали, что через 90 мин. во второй 10-минутной пробе с промыванием присутствовали лишь следы глюкозы, т. е. к этому времени всасывание субстрата практически было завершено.

Сходный метод использовали Камминс и Юссила (Cummins a. Jussila, 1955) при сравнении резорбции в верхней и нижней частях тонкой кишки.

Переваривание и всасывание пищевых веществ может быть исследовано методом Элсона (Elson a. oth., 1942). Автор предложил аппарат, содержащий цилиндр из тонкой латунной трубки длиной 4 см и диаметром 1 см, к суженному проксимальному концу которого прикрепляется резиновая трубка. В этот цилиндр помещается внутренний цилиндр, в который вводится определенное

количество исследуемого пищевого вещества. Дистальная часть аппарата заключена в парафин для предохранения пробного вещества от контакта с желудочным или кишечным соками. В зависимости от изучаемой части кишки аппарат или помещается в простую трубку, обычно используемую для интубации, или соединяется с одним из каналов трубки Миллера и Аббота, другой канал которой связан с баллоном. Трубка вводится в нужную часть желудочно-кишечного тракта под флюороскопическим контролем, вслед за чем давлением воздуха внутренний цилиндр выбрасывается из наружного. В конце измерительного периода трубка и аппарат извлекаются обычно отдельно.

Некоторые авторы (Blankenhorn a. oth., 1955; Borgstrom a. oth., 1957, и др.) использовали метод интубации для определения скорости переваривания и всасывания на различных уровнях тонкой кишки после введения хорошо сбалансированного жидкого пробного завтрака. Гибкий зонд вводился через нос.

Далквист и Боргстрем (Dahlqvist a. Borgstrom, 1961) провели в клинике исследование, в котором ряд дисахаридов (сахароза, мальтоза и лактоза), а в некоторых случаях крахмал, вводились в пробном завтраке для расчета их гидролиза и всасывания, а также для определения карбогидразной активности кишечного содержимого. Пробы забирались на различных уровнях тонкой кишки при помощи многоканального зонда, причем расстояние от места введения трубки (носа) до желудка было 60—65 см, до перехода тощей кишки в подвздошную — 85—90 см и до илеоцекальной области — 300 см. В некоторых опытах баллон, содержащий ртуть, помещался в небольшой цилиндр размером 5×14 мм. В ряде случаев для проникновения в дистальные отделы тонкой кишки трубка оставалась на два дня.

Данные по скорости диффузии и осмоса через кишечную мембрану могут быть получены при вливании (инстилляции) краски непосредственно в полость кишки и по измерению времени ее появления в крови. Изучение времени появления и величины экскреции некоторых красок, введенных внутривенно, в петлю кишки может дать полезные сведения о величине экскреторных функций кишечной слизистой.

Из эндоскопических методов исследования большое будущее принадлежит визуальному осмотру слизистой двенадцатиперстной кишки с помощью фиброскопа (эндоскопического инструмента со светопроводом). Его использование позволит диагностировать язвенную болезнь с локализацией язвы в двенадцатиперстной кишке и хронические дуодениты, а также патологические изменения в области выхода в двенадцатиперстную кишку желчевыводящих путей и протока поджелудочной железы.

Хиршовитц и Балинт (Hirschowitz a. Balint, 1961) привели описание инструмента для различного вида эндоскопий, используемых при диагностике нарушений в верхней части желудочно-

кишечного тракта. Прибор особенно удобен для исследования поверхностных поражений слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки, а также при определении желудочных и кишечных кровотечений. Хиршовитц (Hirschowitz, 1963) отмечает, что из 275 случаев обследования больных этим прибором был только один несчастный случай с перфорацией пищевода. В наконечник отмеченного прибора вмонтирована лампочка, что дает возможность делать цветные фотографии как в покое, так и в движении без дополнительного освещения. Эндоскопию целесообразно использовать в комбинации с радиологическими методами диагностики.

Метод кишечной интубации, несмотря на целый ряд достоинств, имеет и свои недостатки: он трудоемок, часто тяжело переносится больными, зонд как механический раздражитель может менять течение процессов всасывания и секреции в кишечнике. Кроме того, до последнего времени использование тонких кишечных зондов часто не давало значительной полезной информации. Это было связано с тем, что на основании полученных данных было трудно решить, было ли исследуемое вещество резорбировано или просто часть его не была извлечена при зондировании. В настоящее время эта трудность в значительной степени преодолена благодаря использованию в составе пробных завтраков полиэтиленгликоля с молекулярным весом 2000—4000. Полиэтиленгликоль — растворимый в воде полимер, легко определяемый количественно и не всасываемый стенкой тонкой кишки (Shaffer a. Critchfield, 1947; Hyden, 1955, 1956; Borgström a. oth., 1957; Jacobson a. oth., 1963). Если к пробному завтраку добавлено определенное количество полиэтиленгликоля, то путем сопоставления содержания в аспирированной пробе пищевых веществ и полиэтиленгликоля можно рассчитывать компоненты пробного завтрака, процент их всасывания, а также делать выводы о концентрировании или разведении кишечного содержимого.

Таким образом, метод исследования кишечного содержимого натощак и после соответствующих нагрузок несмотря на то, что не получил до сих пор такого широкого распространения, как другие, является несомненно важным и может служить источником ценных сведений.

МЕТОД АСПИРАЦИОННОЙ БИОПСИИ

Аспирационная биопсия тонкой кишки является важным диагностическим методом, в основе которого лежит изучение структуры и свойств ее слизистой. В последнее время было показано, что состав ферментов плотной части кишечного сока не всегда отражает истинную ферментативную активность поверхности кишечного эпителия, которая играет решающую роль в осуществлении процессов гидролиза и всасывания сложных пищевых веществ — биополимеров (обзоры: Уголев, 1963, 1965, 1966, 1967). С этой

точки зрения очень интересным является взятие небольших кусочков слизистой тонкой кишки с помощью метода аспирационной биопсии (рис. 23). В этом случае благодаря гистохимическим и микрохимическим методам представляется возможным охарактеризовать не только структуру и ультраструктуру тонкой кишки в норме и при различных формах патологии (что чрезвычайно важно для диагностики), но также состав ферментов, связанных со свободной поверхностью клеток слизистой. В целом появление пероральной биопсии кишки открывает новые пути и возможности

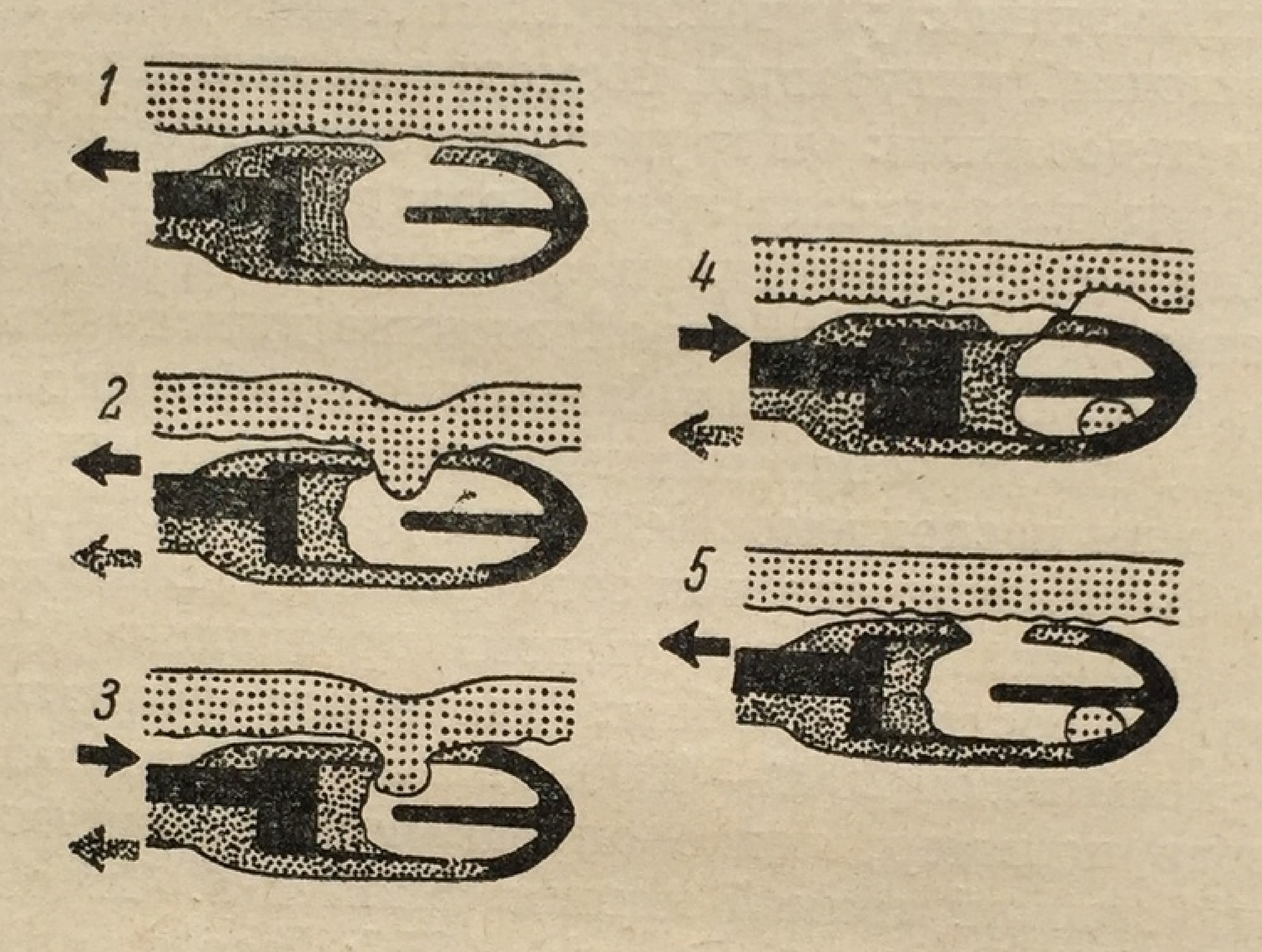


Рис. 23. Различные моменты (*1—5*) взятия кусочков слизистой тонкой кишки методом аспирационной биопсии. (По: Ross a. Moore, 1963, рис. 3, стр. 532).

для исследования цитологических и биохимических характеристик слизистой человека в норме и патологии.

За последние 10 лет возможности аспирационной биопсии тонкой кишки были значительно расширены. Это относится прежде всего к усовершенствованию инструментов для проведения биопсии и к появлению новых методов исследования получаемого материала (в частности, использование стереоскопического микроскопа, в котором препараты рассматриваются без предварительной обработки, электронного микроскопа, а также биохимического изучения слизистой). Развитие методов исследования не только дает возможность уточнить характер структуры тонкой кишки, но позволяет представить себе функциональное состояние последней. В настоящее время метод аспирационной биопсии тонкой кишки привлекает самое пристальное внимание.

Способ получения слизистой из верхнего отдела кишечника был применен впервые Ройером (Royer a. oth., 1955) и Шинер (Shiner, 1956a, 1956b, 1957) посредством модификации техники биопсии желудка. Слизистая извлекалась при помощи специального

устройства, состоящего из гибкой трубки, которая под флюороскопическим контролем вводилась через рот так же, как при кишечной интубации. На конце трубки укреплялась цилиндрическая головка, в небольшое отверстие которой при всасывании через трубку втягивалась слизистая и срезалась особым ножом. После биопсии проба и инструмент сразу же извлекались. Прибор может быть введен на 20 см ниже связки Трейтца, однако локализацию определить довольно трудно даже при флюороскопическом контроле, так как полиэтиленовая трубка и капсула радиопроницаемы. Пробы, получаемые этой капсулой, от 1 до 10 мм длины, диаметр срезов обычно около 3 мм.

В последующие годы появились многочисленные модификации этого инструмента. Брандборг и др. (Brandborg a. oth., 1959) дали описание прибора, который отличается от прибора Шинер длиной трубки.

Кросби и Куглер (Crosby a. Kugler, 1957) ввели изменение в устройство, приводящее в действие нож для биопсии. Авторы сконструировали прибор, содержащий снабженный пружиной вращающийся нож. После аспирации кусочка слизистой в цилиндрическую капсулу этот нож приводится в действие изменением воздушного давления. Указанная капсула проникает в кишечник при перистальтике. Кроме того, следует отметить, что размеры капсулы достаточно малы и она может быть введена без особых затруднений при отсутствии анастезии.

Кросби (Crosby, 1963) отмечает, что капсула может быть использована на любых уровнях кишечника вплоть до илеоцекального соединения и вызывает минимальные нарушения. Диаметр пробы слизистой, полученной методом Кросби, около 4.5 мм.

Пимпаркар (Pimparkar, 1964) для проведения множественной биопсии предлагает одновременно ввести 2—3 капсулы Кросби с тем, чтобы поместить их в различные участки кишечника.

Ройер, Флик и др. (Royer a. oth., 1959; Flick a. oth., 1961) отметили, что с помощью пероральной биопсии при однократном взятии слизистой нет возможности определить достаточно точно локализацию и протяженность нарушений при целиакии и спру. Авторы предложили гидравлическую засасывающую трубку для биопсии, благодаря которой можно брать множественные пробы с любого уровня желудочно-кишечного тракта и доставлять их исследователю, тогда как сам инструмент находится на одном месте. Аналогичный прибор использовали Бакер и Хайес (Baker a. Hyghes, 1960).

Росс и Мур (Ross a. Moore, 1961, 1963), руководствуясь принципами гидростатики и вакуума, разработали капсулу для биопсии, в которой давлением можно управлять с помощью баллона Миллера и Аббота, соединенного с полиэтиленовой трубкой. Наличие баллона, несмотря на дополнительную трубку для его раздувания, увеличивает подвижность прибора. Указанная кап-

сула дает возможность получать множественные пробы слизистой желудка и кишечника.

Появились также советские конструкции капсул. М. И. Думешем (1965) разработана оригинальная капсула для получения проб слизистой тонкой кишки, которая нашла применение во многих клиниках страны. Следует упомянуть капсулу, предложенную профессорами Ц. Г. Масевичем (1965) и С. М. Рыссом (1965), которая широко используется для исследования структур слизистой при различных патологических состояниях.

Перейдем далее к общей оценке метода.

Как отмечено выше, для биопсии кишки используются инструменты, которые основаны на принципе аспирации с последующим отсечением ткани биопсионным ножом. Предложены одноканальные полужесткие (Royer a. oth., 1955; Shiner, 1956a, 1956b, 1957; Масевич, 1964), полностью сгибаемые (Crosby a. Kugler, 1957; Crosby, 1963), а также двухканальные (Lehman, 1961; Henning u. and., 1962; Pollard, 1962; Масевич, 1967, и др.) биопсионные зонды. С помощью последних, основанных на принципе гидравлики, можно при одном введении получить несколько кусочков слизистой тонкой кишки из различных ее отделов, что было отмечено при описании ряда используемых зондов.

При оценке биопсионных зондов должны быть учтены некоторые условия.

1. Биопсия должна быть безопасной. A priori можно думать, что чем меньше получаемый кусочек слизистой, тем меньшая вероятность нежелательных последствий. Вместе с тем, если этот кусочек слишком мал, то исследовать его структуру затруднительно. Следовательно, величина получаемого при биопсии образца должна быть достаточной, но в то же время образец не должен быть слишком большим во избежание возможных осложнений. Размер кусочка слизистой зависит от диаметра биопсионного отверстия в капсуле, величины отрицательного давления, создаваемого при аспирации, и времени, в течение которого это отрицательное давление следует поддерживать. При взятии биопсии наиболее рациональными являются следующие параметры: диаметр биопсионного отверстия должен быть 2.5 мм, отрицательное давление— 280—300 мм рт. ст. и время, в течение которого его следует поддерживать, — 2 сек. При соблюдении указанных условий получаются кусочки слизистой весом 16—26 мг. Размеры их вполне достаточны как для гистологического, так и для биохимического исследований. Вместе с тем взятие биопсионного материала происходит без осложнений.

2. Биопсия может оказаться безрезультатной. Последнее обстоятельство зависит от инструментария, а также от особенностей тонкой кишки больного. Наибольшее количество неудач при биопсии наблюдается при использовании двухканальных зондов, основанных на принципе гидравлики. При увеличении биопсион-

ного отверстия у этого типа инструментов с 2.5 до 4 и даже 5 мм количество неудачных проб становится значительно меньше, но в некоторых случаях получаются слишком большие кусочки, что может привести к серьезным осложнениям (кровотечениям, перфорации).

3. При введении полужестких биопсионных зондов легко осуществляется рентгенологический контроль за локализацией зонда, так как четко видна металлическая спираль внутри прибора. В зондах другой конструкции рентгенологически можно проследить движение лишь металлической биопсионной капсулы, что затрудняет ориентацию при взятии биопсии.

Наиболее удобен и надежен полужесткий биопсионный зонд. С его помощью может быть взята биопсия из верхнего отдела тонкой кишки. Если возникает необходимость в получении слизистой из нижнего отдела кишечника, то следует применять двухканальный зонд.

С увеличением сложности конструкции можно добиться лучших результатов, однако существует опасность механических трудностей. Инструмент должен быть достаточно надежен.

Следует отметить, что в ряде случаев возможны повреждения, причины которых одинаковы для всех типов инструментов. Эти повреждения могут быть при неспособности больного проглотить прибор, при невозможности капсулы пройти через желудок. В последнем случае оральное введение небольшой дозы 1—2%-го раствора прокаина может оказать существенную помощь. Кроме того, возможен автолиз пробы, в особенности при задержке в извлечении зонда (спазм кардиального отдела желудка или привратника). Далее, повреждения наблюдаются при закупорке отверстия капсулы и трубки частицами пищи и слизью и при ампутации слизистой недостаточно острым ножом.

В числе осложнений необходимо отметить перфорации и геморрагии, которые возможны в месте биопсии. Однако перфораций практически не отмечается. Последнее обстоятельство, по-видимому, связано с тем, что инструмент не способен резать ниже субмукозного слоя, так как слизистая скользит по нему. При увеличении всасывания в капсулу аспирируется скорее большая площадь слизистой, чем мышечный или серозный слои.

Что касается геморрагий, то отмечено, что кровотечений после биопсий, как правило, не наблюдается (Brandborg a. oth., 1959; Sheehy a. Floch, 1964; Масевич, 1967) (микроскопическое исследование образцов биопсий свидетельствует об отсутствии в них крупных кровеносных сосудов). Кроме того, у больных может наблюдаться частичная или полная непроходимость. Чтобы избежать подобного осложнения, до проведения биопсии предлагается использовать завтрак с барием с последующей рентгеноскопией. Барий дополнительно помогает выявить язвы, при которых биопсия противопоказана. Без предварительного рентгенологического

обследования проводить биопсию вообще не рекомендуется (Pimparkar, 1964).

По данным морфологического исследования слизистой, получаемой с помощью аспирационной биопсии, можно судить только о диффузных изменениях. Наряду с этим серийные исследования, проведенные у одного больного (множественные биопсии из разных отделов тонкой кишки), показали, что возможно обнаружить очаговые патоморфологические изменения (Heinkel u. and., 1962). Это справедливо и по отношению к одному кусочку слизи-

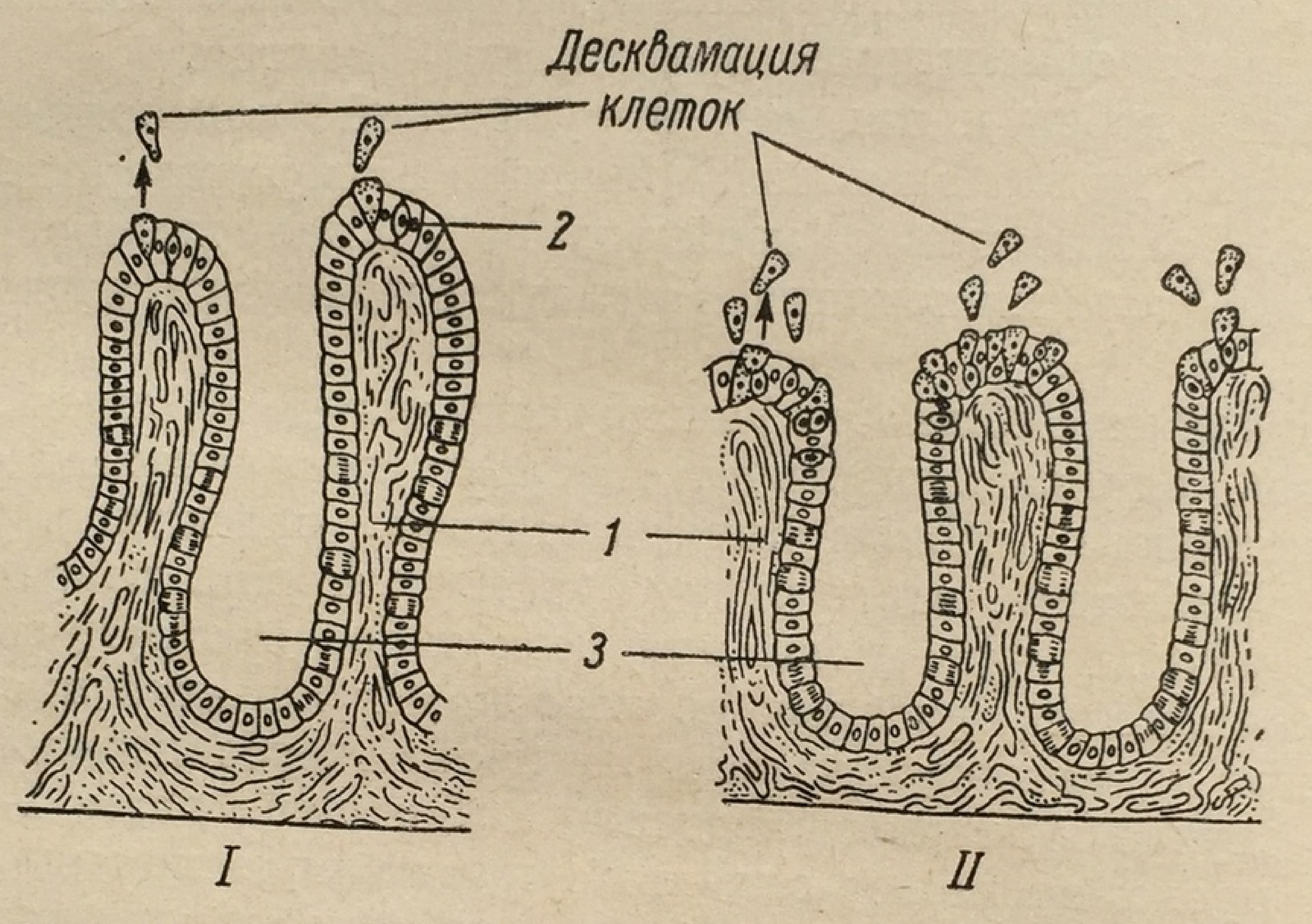


Рис. 24. Схема нормальной миграции эпителия крипт и ворсинок кишечной слизистой (*I*) и усиленная десквамация эпителиальных клеток при нетропической форме спру (*II*). (По: Ashworth a. Chears, 1962, рис. 19, стр. 889).

1 — ворсинки; *2* — лимфоциты; *3* — крипты.

стой. Патоморфологические изменения могут наблюдаться иногда лишь в отдельных ворсинках. Таким образом, наличие нормальной слизистой в данном препарате не исключает возможности нарушений в смежных участках кишки.

Существенно затрудняют трактовку патоморфологических изменений и физиологические процессы в слизистой тонкой кишки. Последнее относится к клеточной инфильтрации с наличием или без лейкопедеза ворсинок и собственного слоя слизистой, а также к изменению эпителия, особенно в апикальной части ворсинок (рис. 24). Следует отметить также возможные изменения слизистой, вызванные отрицательным давлением, создаваемым при взятии биопсии (кровоизлияния непосредственно под клетками кишечного эпителия, его отторжение, отек и т. д.).

Основным процессом, наблюдаемым при патоморфологических изменениях слизистой тонкой кишки, является атрофия, вы-

раженная в различной степени. Атрофия, как правило, сопровождается признаками воспалительной реакции: усиленной клеточной инфильтрацией, расширением кровеносных и лимфатических сосудов, увеличением количества бокаловидных клеток и т. д. Степень атрофии определяется уменьшением числа ворсинок, их уплощением, уменьшением количества крипт. Выраженность морфологического синдрома воспалительной реакции в слизистой не зависит от степени ее атрофии. Иногда развитие атрофии слизистой может быть связано с обострением воспалительного процесса.

Повреждение поверхностного эпителия, клеточная инфильтрация, отек ведут к гибели клеток и, если это повторяется неоднократно, то к истощению регенераторных возможностей слизистой и развитию ее атрофии.

При гистохимическом исследовании можно наблюдать положительную ШИК-реакцию в области микроворсинок нормальной слизистой. Она также положительна в области бокаловидных клеток и в эпителии бруннеровских желез двенадцатиперстной кишки. Кислые мукополисахариды (реакция Гале) четко выражены только в бокаловидных клетках. В области щеточной каймы реакция Гале лишь слабо положительна. При наличии морфологических изменений тонкой кишки (воспалительная реакция, атрофия) изменяется также и гистологическая реакция. В частности, ШИК-реакция может быть выражена значительно слабее, чем это имеет место в норме. ШИК-положительные вещества могут быть обнаружены в толще слизистой вне бокаловидных клеток и щеточной каймы. Увеличение бокаловидных клеток приводит к более выраженной положительной реакции Гале в области щеточной каймы. При выраженном воспалительном процессе можно наблюдать положительную реакцию Гале в толще слизистой оболочки.

В настоящее время опубликован ряд работ по изучению слизистой тонкой кишки с помощью электронного микроскопа (Zetterqvist a. Hendrix, 1960; Rubin a. oth., 1960, 1962; Hartman a. oth., 1960; Trier, 1962; Preisich a. oth., 1965; Rubin a. Dobbins, 1965, и др.). Увеличение в десятки тысяч и более раз дает возможность изучать ультраструктуру слизистой тонкой кишки. Следует учитывать, однако, что при электронной микроскопии исследование ограничивается только одной клеткой или даже частью ее. Практически — это цитология клеток тонкой кишки. В условиях патологии с помощью электронной микроскопии удается констатировать уплощение микроворсинок, уменьшение их количества, а также признаки дистрофии клеток (изменение органоидов клетки).

Значительный интерес представляет биохимическое исследование тонкой кишки, которое будет подробно изложено в разделе «Приложения».

В клинической практике нередко бывает довольно затруднительно подтвердить участие тонкой кишки в сложной картине болезни, связанной с нарушением пищеварительных функций. Клиническая симптоматика, которая будто бы достаточно четко указывает на патологические изменения тонкой кишки, может в отдельных случаях быть следствием недостаточности поджелудочной железы, как это имеет место при панкреатической стеаторрее. С другой стороны, при наличии патологического процесса

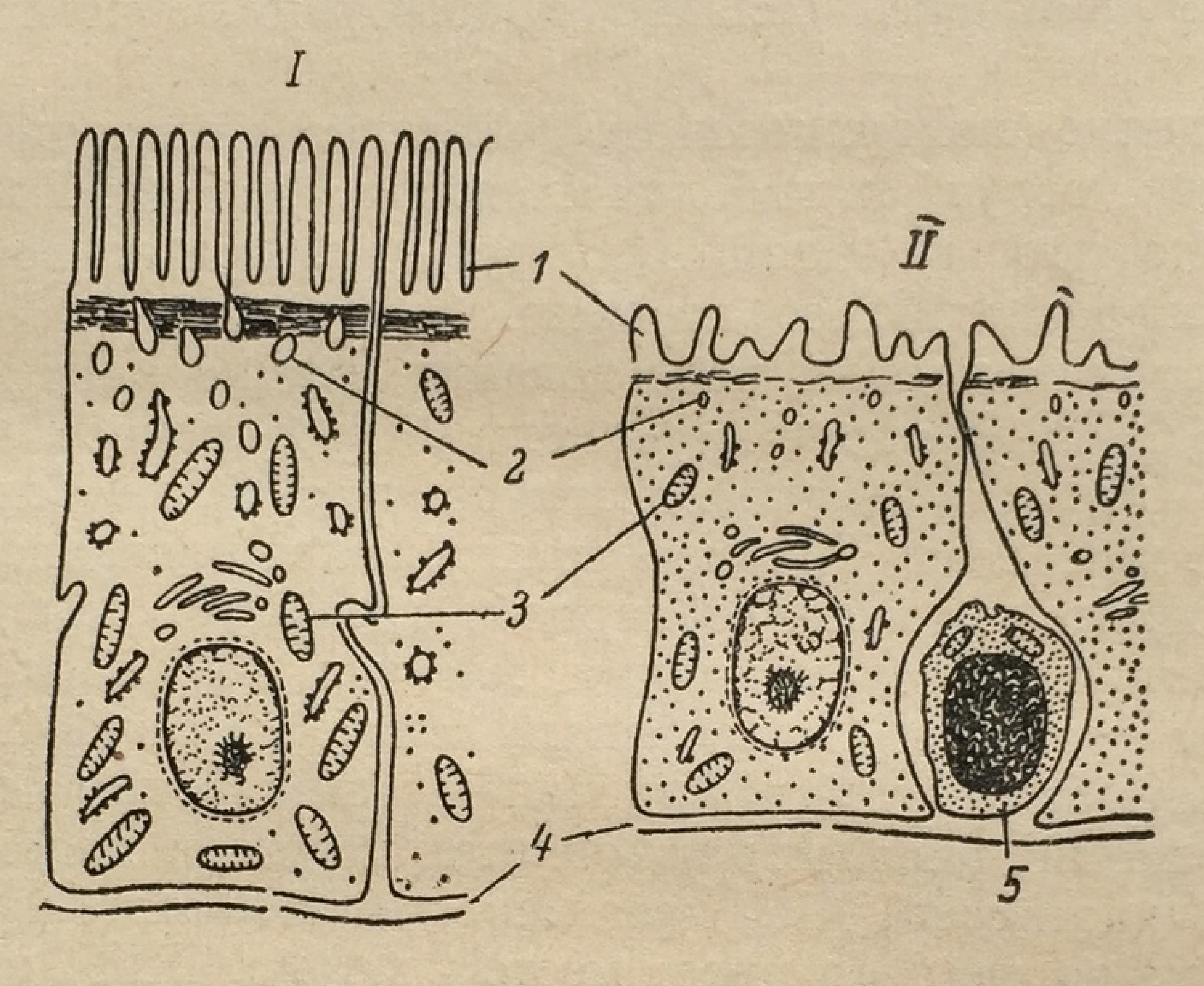


Рис. 25. Схематическое изображение ультраструктуры клеток кишечного эпителия в норме (*I*) и при нетропической форме спру (*II*). (По: Ashworth a. Chears, 1962, рис. 18, стр. 889).

1 — микроворсинки; *2* — пиноцитозные гранулы, *3* — митохондрии; *4* — базальная мембрана; *5* — лимфоцит.

в верхнем отделе тонкой кишки клинические симптомы ее поражения могут отсутствовать.

При заболеваниях тонкой кишки с клинически выраженной симптоматикой биопсия кишки позволяет выявить яркие морфологические изменения в слизистой, которые играют главную роль при проведении дифференциальной диагностики. Это касается таких заболеваний, как идиопатическое спру, целиакии, синдром малабсорбции. При таких патологических состояниях наблюдается отчетливая атрофия ворсинок, более или менее выраженные явления воспаления — клеточная инфильтрация, расширенные капилляры, отек (рис. 25).

Следует отметить, что гистологические и гистохимические признаки поражения слизистой тонкой кишки весьма стойки и часто почти не меняются, несмотря на улучшение в состоянии больных.

При ряде распространенных заболеваний органов пищеварения наблюдаются симптомы, которые указывают на сопутствующую патологию тонкой кишки (функциональную или морфологическую): это диспептические нарушения, диаррея, демпинг-синдром. Указанные симптомы встречаются при заболеваниях желудка (хронические гастриты, болезнь оперированного желудка), язвенной болезни, заболеваниях желчевыводящих путей, поджелудочной железы. Применение биопсии тонкой кишки может в этих случаях объективно подтвердить участие тонкой кишки в патологическом процессе. Морфологическое изучение слизистой кишки при хронических гастритах и язвенной болезни показало, что в ряде случаев изменения в тонкой кишке сопутствуют указанным заболеваниям (Масевич, 1967). Язвенная болезнь, особенно при локализации язвы в двенадцатиперстной кишке, часто сопровождается выраженными морфологическими изменениями слизистой верхнего отдела тонкой кишки вне локализации язвы, так же как и хронический гастрит. При язвенной болезни и хронических гастритах выявление морфологических и функциональных изменений тонкой кишки имеет определенное практическое значение. Если провести сравнение между клинической симптоматологией и сопутствующими изменениями в тонкой кишке, то можно отметить некоторые клинические особенности, связанные с патологией кишки. Последние обусловливают атипичность течения заболевания. При выраженном сопутствующем дуодените или еюните с явлениями нарушения мембранного пищеварения и при язвенной болезни значительно снижается эффективность терапии и лечение продолжается более длительные сроки.

Изменения тонкой кишки, которые могут быть установлены с помощью аспирационной биопсии, описаны также у больных с хроническими холециститами и холангитами (Nikoloff, 1965). Были показаны более глубокие морфологические изменения слизистой (частичная атрофия) при затяжных и тяжелых заболеваниях желчевыводящих путей. Морфологические изменения в слизистой тонкой кишки были обнаружены в 37% случаев резецированного желудка (по поводу язвенной болезни и рака желудка) (Fodor, 1963). Отмечены также изменения в структуре слизистой тонкой кишки при вирусных заболеваниях, что сопровождается соответствующей клинической симптоматикой (Sheehy a. oth., 1964). Нарушения в тонкой кишке, установленные при биопсии, описаны при глистных инвазиях (Sheehy, 1962) и сахарном диабете (Vinnik a. Kern, 1962). Следовательно, морфологические и функциональные изменения в тонкой кишке, устанавливаемые с помощью аспирационной биопсии, могут быть обнаружены как при заболеваниях тонкой кишки, так и при целом ряде других поражений органов пищеварения. В последнем случае сопутствующая патология тонкой кишки меняет течение заболевания, что необходимо учитывать при дифференциальной диагностике.

10 Заказ № 1392

Итак, подводя итоги всему изложенному, можно сказать, что аспирационная биопсия является ценным диагностическим методом при исследовании целого ряда заболеваний, и прежде всего — болезней тонкой кишки, при синдромах малабсорбции и недостаточности ассимиляции, при гистопатологии. Кроме того, этот способ дает возможность ближе подойти к пониманию как физиологии, так и патологии клетки и позволяет более детально анализировать ее тонкое строение.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ФЕРМЕНТОВ ТОНКОЙ КИШКИ

Как отмечалось ранее, ферменты, действующие в тонкой кишке и осуществляющие гидролитическое расщепление биополимеров, продуцируются поджелудочной железой и поступают в полость кишки или же синтезируются кишечными клетками и затем включаются в состав их мембран. Первые, секретируясь в полость, частично адсорбируются поверхностью мембран клеток кишечного эпителия и вместе с собственно кишечными ферментами участвуют в сложном комплексе реакций, обеспечивая мембранное пищеварение.

Собственно кишечные ферменты (глюкозидазы, дипептидазы, моноглицеридлиапаза и др.) локализованы на внешней поверхности, структурно связаны с мембранами кишечных клеток и практически не переходят в содержимое кишки (обзоры: Уголев, 1963, 1965, 1966, 1967). Незначительное количество этих ферментов (5—10%), которое обнаруживается в полости кишки, поступает туда при десквамации и последующем автолизе кишечного эпителия.

Существует несколько методических приемов, с помощью которых можно делать выводы относительно ферментативной активности тонкой кишки.

Метод интубации дает возможность получать пробы содержимого с различных уровней желудочно-кишечного тракта натощак (и в дальнейшем исследовать их ферментативную активность in vitro) или при различных нагрузках, что позволяет по степени гидролиза судить об активности соответствующих ферментов. Анализ проб натощак позволяет составить представление главным образом об активности панкреатических ферментов, действующих в составе содержимого тонкой кишки, а также оценить активность энтерокиназы и щелочной фосфатазы дуоденального сока, содержимого кишки и кала в норме и при некоторых формах патологии (Михлин, 1961; Фомина, 1964; Шлыгин, 1964, и др.). Однако в настоящее время этих данных для определения функционального состояния тонкой кишки недостаточно. Необходимо исследовать активность ряда других ферментов, в частности дисахаридаз, пептидаз, моноглицеридлипазы и т. д. (методы определения частично изложены в работе В. С. Асатиани, 1965, и в «Приложе-

ниях»). Анализ кишечного содержимого натощак, полученного методом интубации, дает небольшую информацию относительно ферментов, связанных со структурами слизистой тонкой кишки. В этом отношении более целесообразно исследовать содержимое после определенных нагрузок, что позволяет по убыли тестируемого субстрата или по приросту продуктов его гидролиза косвенным путем судить о ферментативной активности тонкой кишки. С этой точки зрения значительный интерес представляют работы Боргстрема, Далквиста и др. (Borgstrom a. oth., 1957; Dahlqvist a. Borgstrom, 1961, и др.), в которых авторы исследовали кишечную фазу пищеварения и всасывания у человека при помощи метода интубации с предварительной дачей пробных завтраков. Авторы получили ценные факты, свидетельствующие о чрезвычайно низкой глюкозидазной активности содержимого тонкой кишки и тем не менее высоких темпах ферментативной обработки дисахаридов. В соответствии с представлениями тех лет авторы пришли к выводу о локализации гидролитических ферментов внутри клеток кишечного эпителия, тогда как их эксперименты дают основание думать, что дисахаридазы действуют в составе кишечных клеток на их свободной поверхности.

Особенно ценный материал может дать метод аспирационной биопсии, так как он позволяет в дальнейшем проводить гистохимическое и биохимическое исследование локализации ферментов, связанных с мембранами кишечных клеток, изучать с помощью электронного микроскопа ультраструктуру слизистой, брать множественные пробы на различных уровнях тонкой кишки и из ее различных отделов. Последнее дает возможность проводить сравнительный анализ полученных данных в норме и при различных формах патологии.

Ряду авторов (Auricchio a. oth., 1963; Dahlqvist a. oth., 1963; Kern. a. oth., 1963; Pander a. oth., 1963; Klotz, 1964; Jeffries a. oth., 1964; Peternel, 1965, и др.) при гомогенизации слизистой, полученной при биопсии, удалось обнаружить различные дисахаридазные недостаточности (в частности, лактазную недостаточность), приводящие к тяжелым формам интолерантностей. Анализ данных, полученных указанными авторами, позволяет прийти к заключению, что в патогенезе указанных нарушений основную роль играет ферментативная недостаточность. Более подробно этот вопрос будет освещен в разделе «Некоторые клинические аспекты мембранного пищеварения» наряду с методом множественных нагрузок, который может дать ценные сведения относительно нарушений ферментных систем тонкой кишки и ее функционального состояния.

В заключение представляется интересным привести данные Далквиста (Dahlqvist, 1965a), касающиеся нормального распределения дисахаридазной активности в тонкой кишке взрослых и детей (табл. 5).

Таблица 5

Дисахаридазная активность (в условных единицах в расчете на 1 г веса ткани) слизистой тонкой кишки человека (средние данные). (По: Dahlqvist, 1965a, стр. 139—140)

Отдел тонкой кишки	Дисахаридазная активность				
	мальтаза	изомальтаза	инвертаза	лактаза	трегалаза
Взрослые					
Двенадцатиперстная кишка:					
проксимальная часть	3.7	0.4	0.2	0.1	—
вся	35.0	10.0	10.0	6.0	7.0
Тощая кишка . . .	31.0	9.0	10.0	6.0	0.6
Подвздошная кишка	28.0	7.0	7.0	3.0	0.8
Дети					
Тощая кишка. . . .	12.8	3.8	6.1	2.4	Не исследовалась
Подвздошная кишка	6.5	2.5	2.0	1.6	Не исследовалась

НЕКОТОРЫЕ КЛИНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ МЕМБРАННОГО ПИЩЕВАРЕНИЯ

В настоящее время обнаружено, что при различных заболеваниях желудочно-кишечного тракта имеют место выраженные нарушения механизмов, обеспечивающих мембранное пищеварение. Нарушения могут иметь инфекционную и неинфекционную этиологию, быть приобретенными или наследственными. Известные формы патологии мембранного пищеварения могут быть обусловлены атрофией ворсинок, атрофией микроворсинок, обнаруживаемой при электронной микроскопии, нарушением структуры и ультраструктуры кишечных клеток, изменением ферментного слоя поверхности, изменением сорбционных свойств клеточных мембран, расстройством моторики кишечника, при котором нарушается перенос пищевых субстратов из полости кишки на поверхность кишечных клеток.

Нарушения мембранного пищеварения встречаются при довольно широком круге заболеваний (тропическая и нетропическая форма спру, азиатская холера, различные гастроэнтериты, энтероколиты, илеоеюниты), а также после интенсивной неомициновой терапии, различных оперативных вмешательств на желудочно-кишечном тракте (например, после гастроеюностомии и субтотальной резекции желудка). Известно также, что при многих вирусных заболеваниях, в частности при полиомиелите, свинке, аденовирусном гриппе, гепатите и кори (Sheehy a. Floch, 1964),

возникают тяжелые расстройства пищеварения с явлениями диареи и стеаторреи. При всех этих заболеваниях наблюдается в различной степени выраженная атрофия ворсинок, нарушение ультраструктуры щеточной каймы, образуемой микроворсинками, и недостаточность ферментного слоя. Другими словами, упомянутые заболевания можно интерпретировать как патологию мембранного пищеварения.

Нередко нарушение ультраструктуры щеточной каймы, что само по себе ведет к серьезным поражениям мембранного пищева-

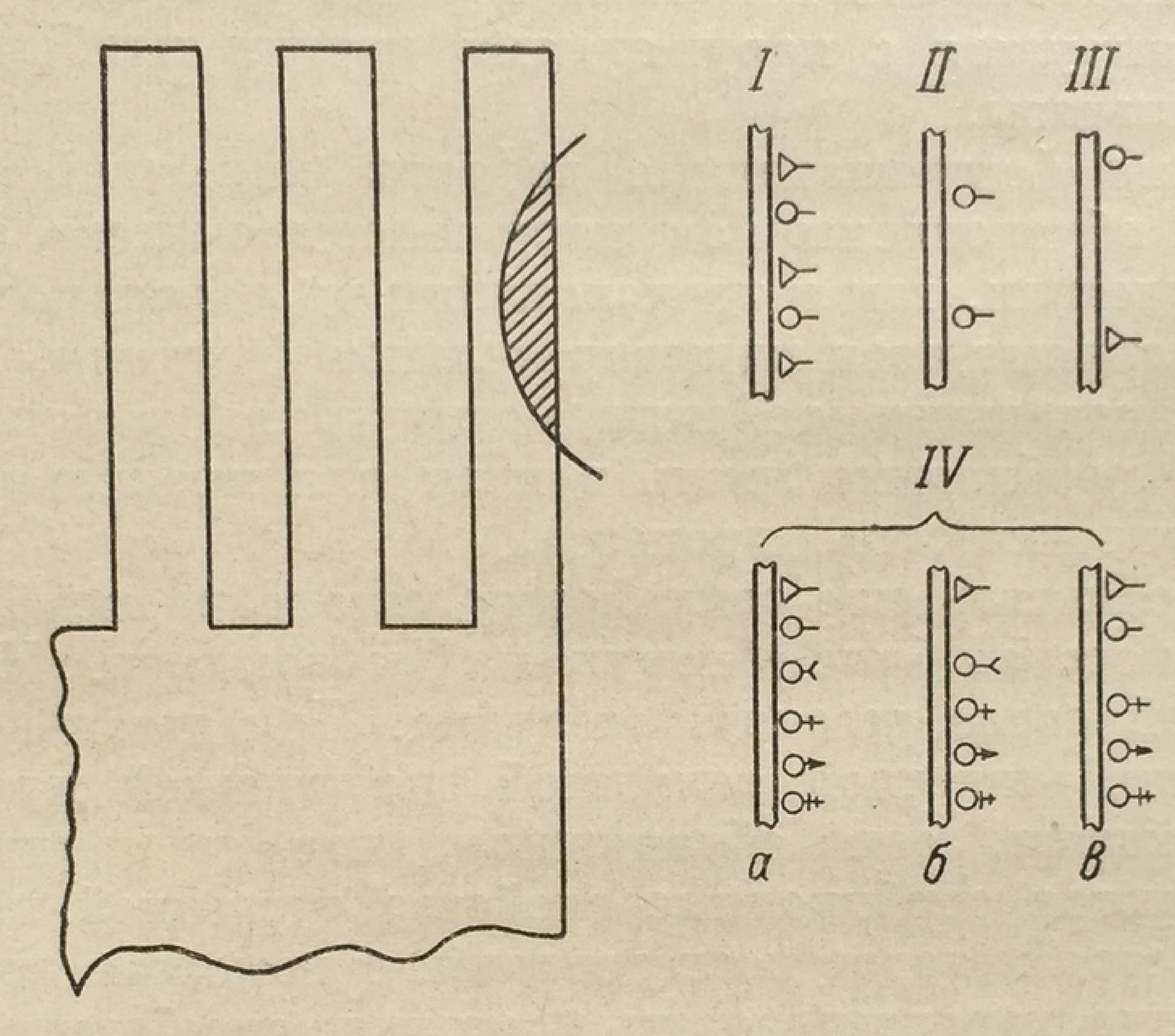


Рис. 26. Различные формы нарушения ферментного слоя поверхности тонкой кишки (*слева* — схема). (По: Уголев, 1967, рис. 55, стр. 139).

I — нормальная структура ферментного слоя; *II* — отсутствие адсорбции из химуса при сохранности собственно кишечных ферментов; *III* — уменьшение количества всех ферментов на поверхности мембраны кишечной клетки; *IV* — нормальный состав ферментного слоя (*а*) и отсутствие одного из ферментов поверхности (*б*, *в*).

рения, сочетается с резким уменьшением ферментативной активности поверхности мембран кишечных клеток. Такие явления были обнаружены, в частности, при нетропической форме спру (Padykula a. oth., 1961; Rubin a. oth., 1962). Известны многочисленные случаи, при которых ультраструктура щеточной каймы остается практически нормальной, но тем не менее обнаруживается недостаточность одного или нескольких пищеварительных ферментов (рис. 26). Очень многие пищевые интолерантности обусловлены этими специфическими нарушениями ферментного слоя кишечной поверхности. В настоящее время хорошо известны парциальные ферментные недостаточности тонкой кишки.

Дисахаридазные недостаточности (в том числе инвертазная) могут быть первичными, т. е. обусловленными соответствующими генетическими дефектами, и вторичными, развивающимися на фоне различных болезней, например при спру (Santini a. oth., 1960), при регионарных энтеритах (Prader a. Auricchio, 1965), после оперативных вмешательств (Gryboski a. oth., 1963), при неспецифическом энтерите и вирусном гепатите (Sheehy a. Anderson, 1965), при холере и инфекционной диаррее иной этиологии (Lindenbaum, 1965) и т. д. Следует отметить, что изолированная инвертазная недостаточность встречается редко и в большинстве случаев комбинируется с нарушениями других карбогидраз, чаще всего изомальтазы.

Указанные ферментативные дефекты кишечной поверхности могут быть обусловлены как нарушением синтеза ферментов в кишечных клетках, так и транслокации на поверхность мембран, где они выполняют свои пищеварительные функции. Таким образом, пищеварительные дефекты могут иметь двоякое происхождение, что необходимо иметь в виду для правильной характеристики патологического процесса.

Следует отметить еще одну форму патологии мембранного пищеварения, которая была обнаружена Хуфтом и др. (Hooft a. oth., 1963) у детей после резекции желудка. При детальном исследовании свойств кишечной слизистой, полученной путем аспирационной биопсии, они обнаружили, что у таких больных резко снижаются сорбционные свойства кишечной поверхности.

Что касается методов исследования, с помощью которых клиницисты могут характеризовать состояние мембранного пищеварения, то они тесно связаны с методами исследования ферментативной активности тонкой кишки.

Наиболее целесообразным можно считать метод аспирационной биопсии, позволяющий определить структуру, ультраструктуру кишечных клеток ворсинки, и с помощью различных физиологических и биохимических методов — функцию кишечного эпителия, а также проводить цитофизиологическое исследование ферментов.

Особое значение имеет техника, основанная на сопоставлении (в одном исследовании) активности гомогенатов и интактных клеток кишечного эпителия. В нашей Лаборатории было показано (Уголев и др., 1966), что одним из наиболее интересных методических приемов является сочетание определения ферментативной активности в целых клетках, характеризующее пищеварительную функцию поверхности тонкой кишки, и в гомогенатах, что дает представление об общем запасе ферментов в эпителиальных клетках. Этот метод позволил обнаружить, что в одних случаях нарушается как синтез ферментов, так и их последующая транслокация на поверхность клеточных мембран, в других — избирательно страдают процессы или синтеза, или транслокации.

Чрезвычайно перспективен метод множественных нагрузок, давно используемый в клиниках (рис. 27). Этот метод не является новым, но сочетание нескольких нагрузок позволяет получить ценные сведения о состоянии желудочно-кишечного тракта. Сочетание нагрузки моно-, ди- и полисахаридами позволяет решить вопрос о том, нарушено ли переваривание углеводов и в каком именно звене. Так, например, при изолированном нарушении

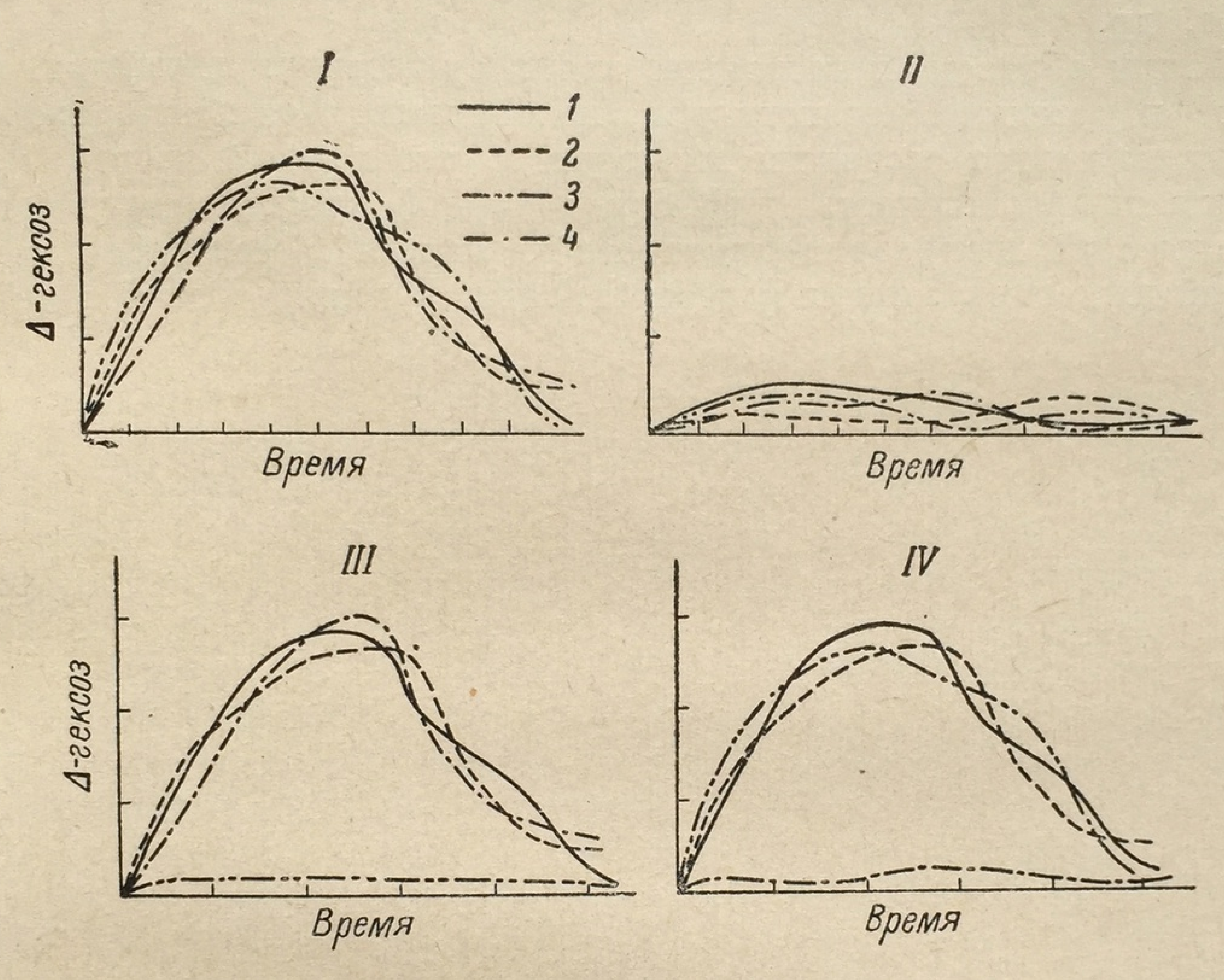


Рис. 27. Схема, иллюстрирующая повышение Δ-гексоз (прирост гексоз) крови при различных углеводных нагрузках.

I — норма; *II* — отсутствие гипергликемии, встречающееся при общих поражениях кишечника и при нарушении процессов всасывания; *III* — изолированное нарушение гидролиза крахмала; *IV* — лактозная интолерантность. *1* — глюкоза; *2* — мальтоза; *3* — крахмал; *4* — лактоза.

переваривания лактозы при всех углеводных нагрузках, за исключением лактозной, будет наблюдаться гипергликемия. В случае инвертазной недостаточности лактозная, мальтозная и крахмальная нагрузки будут давать гипергликемию, тогда как после введения сахарозы кривая будет плоской.

Этим не исчерпываются методы исследования ферментативной функции кишечного эпителия, но именно они и в особенности аспирационная биопсия и метод нагрузок могут дать наиболее полезную информацию, касающуюся нарушений мембранного пищеварения.

В заключение раздела следует упомянуть, что в настоящее время чрезвычайно перспективен метод радиотелеметрического ис-

следования пищеварительной системы, который с помощью специальной радиокапсулы позволяет изучать pH, температуру, давление и т. д. на всем протяжении желудочно-кишеного тракта (Гукасян, 1964; Тиманов и Фишзон-Рысс, 1967, и др.).

Что касается методов исследования процессов всасывания в кишечнике различных ионов, то они широко представлены в ряде капитальных руководств, в частности Бокуса (Bockus 1964), Уайсмана (Wiseman, 1964), Шихи и Флоча (Sheehy a. Floch, 1964) и мн. др.

Таким образом, в настоящее время существует целый ряд методов и методических подходов, позволяющих охарактеризовать функциональное состояние кишечника, что в свою очередь обеспечивает возможность дифференциальной диагностики многих заболеваний желудочно-кишечного тракта, и в частности нарушений пищеварительных и резорбтивных функций тонкой кишки.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ КАЛА

Исследование кала имеет большое клиническое значение и является важным и доступным методом в диагностике. Изменения в его составе часто могут быть одним из признаков нарушений функций желудочно-кишечного тракта. Копрологический анализ дает достаточно четкое представление о функциональном состоянии организма и чрезвычайно полезен для постановки диагноза при поражениях пищеварительного аппарата, особенно в фазе декомпенсации патологического процесса. На основании анализа кала в ряде случаев можно получить информацию, касающуюся деятельности отдельных органов, и предположить расстройства функций слюнных желез, болезни желудка (например, гастрогенную диаррею), нарушения в выделении желчи, панкреатическую недостаточность, дисфункцию тонкой кишки, включая симптом малабсорбции, ферментативные дефекты, патологию толстой кишки и т. д. Кроме того, анализ кала незаменим для диагностики инвазии простейшими и гельминтами.

Состав кала. Кал — конечный продукт переваривания сложных пищевых веществ и включает в себя как экзогенные (трансформируемые и нетрансформируемые), так и эндогенные элементы. Он состоит из пищевых остатков, пищеварительных соков, изолированных клеток слизистой, пигментов, кристаллов и т. д. Кроме того, в нем содержится много неорганических веществ, таких, как кальций, фосфор, оксалаты, фосфаты или сходные с ними компоненты. Из органических веществ в кале представлены в основном углеводы, белки и жиры. Ферменты (амилаза, липаза, трипсин, нуклеазы, мальтазы, инвертаза, энтерокиназа, фосфатазы и т. д.) в норме также присутствуют в кале, однако в очень небольших количествах.

В нормальном стуле могут содержаться дрожжи, некоторые грибы и бактерии, составляющие от 30 до 50% общего веса кала, а также патологические бактерии и вирусы.

В норме у взрослых при обычной диете выделяется от 75 до 170 г кала ежедневно. Обычно он содержит 20—30% твердого вещества и 70—80% воды. При диете, богатой растительными веществами, его количество увеличивается, достигая 400—500 г.

В связи с тем, что состав кала находится в зависимости от характера пищи, рекомендуется собирать его для исследования после особых диет (Алексеев-Беркман, 1954; Певзнер, 1958; Михаэлис, 1960; Михайлова, 1962; Гукасян, 1964).[1]

Сбор образца должен проводиться с учетом химических и ферментативных изменений последнего. Лучший способ получения свежего кала — непосредсвенно после сигмоидоскопии (Rothman a. Katz, 1964). Во всяком случае образец должен быть собран в чистую посуду и свободен от примесей.

При проведении химического анализа учитывается вес выделенных испражнений, в связи с чем важно предохранить образец от испарения воды. Для этого кал необходимо хранить в холодильнике в сосуде с плотной крышкой.

Тест для определения перистальтики кишечника. Следует отметить, что состав кала во многом зависит от скорости продвижения пищи по желудочно-кишечному тракту, что обусловлено, в частности, перистальтикой кишечника. Для определения указанной скорости в качестве отметчика можно использовать кармин или древесный уголь, которые вводятся в середине первого завтрака в количестве 0.500—0.648 г в 1—2 желатиновых капсулах (Патцер, 1960; Rothman a. Katz, 1964). М. Тульчинский (1965) рекомендует вводить 0.3 г кармина в капсуле или уголь в зернах вместе с пищей. Запись данных производится от первой порции окрашенного кала до последней. Большая часть красящего вещества выделяется примерно через 40—48 часов после введения. В среднем пассаж кишечного содержимого продолжается 24—48 часов, однако в норме эти сроки могут варьировать от 9 до 98 часов (Тульчинский, 1965). На третьи сутки кал может содержать следы кармина или древесного угля в своей первой части, тогда как последние сегменты обычно не окрашены.

Этот метод рекомендуется как наиболее простой, точный и дешевый для определения времени движения пищи через пищеварительный канал. Ротман и Катц (Rothman a. Katz, 1964) считают, что хотя рентгенологический метод с применением бария и дает информацию о двигательной способности кишечника, однако он менее физиологичен и, кроме того, обходится значи-

---

[1] Следует согласиться с А. Г. Гукасяном (1964), который отдает предпочтение пробной диете М. И. Певзнера перед диетой Шмидта. Последняя содержит относительно большое количество молока, которое нередко плохо переносится больными при нарушениях пищеварительного аппарата, и сравнительно много клетчатки.

тельно дороже, так как для рентгенограммы требуется довольно большое количество пленки.

Классическое копрологическое исследование включает в себя 4 группы методов: 1) макроскопическое исследование; 2) микроскопическое исследование; 3) бактериологическое исследование; 4) химическое исследование.

Вполне понятно, что копрологический анализ представляет тем большую ценность, чем более разносторонне он проведен. В связи с этим частичное исследование кала (например, только макроскопическое) имеет лишь относительное значение.

В условиях стационара важно в первую очередь проведение так называемого общеклинического анализа, куда включается макроскопическое, микроскопическое и химическое исследование. Бактериологический анализ испражнений проводится выборочно при наличии соответствующих показаний.

Существенным является макрогельминтологическое исследование кала. Последнее проводится чаще всего при дегельминтизации для проверки эффективности терапии, но в некоторых случаях (в частности, при паразитировании бычьего и свиного цепней) легче бывает найти членики паразита простым осмотром кала, чем его яйца при микроскопировании.

В настоящей работе мы вынуждены ограничиться кратким рассмотрением макроскопического, микроскопического и химического анализов кала.

МАКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

При макроскопическом анализе испражнений в первую очередь учитывается форма кала, его консистенция, цвет, запах, наличие в нем слизи, гноя и крови.

Форма и консистенция кала зависят от количества и качества пищи, состава жидкости, вегетативной нервной системы, контролирующей тонус и объем толстой кишки, наличия или отсутствия нарушений в толстой, сигмовидной и прямой кишках.

Кал формируется в толстой кишке. Содержание воды в кале в первую очередь зависит от времени его нахождения в толстой кишке. В норме в кале присутствует до 80% воды. При запорах кал обладает более плотной консистенцией и содержит значительно меньше воды, чем в норме. Уменьшение нормальной плотности кала в ряде случаев вызывается нарушением всасывания воды.

Форма кала может быть обусловлена формой толстой кишки, а также спазмами или атонией кишечника.

По внешнему виду стул можно подразделить на оформленный и неоформленный (Алексеев-Беркман, 1954). В некоторых случаях в норме наблюдается 2—3 оформленные дефекации в день, что зависит от усиленной кишечной моторики, часто обусловленной гиперактивностью желудочно-кишечных рефлексов.

В ряде случаев при повышенной нервно-мышечной раздражимости могут быть 4—5 небольших оформленных дефекаций в день.

Нервно-мышечная неустойчивость в толстой кишке, как правило, сопровождается диареей, вызванной слишком быстрым прохождением фекальных масс через толстую кишку, что препятствует нормальному всасыванию воды из ее первой половины. Мягкий стул содержит мельчайшие газовые пузырьки, которые могут являться признаком ферментативных изменений на границе подвздошной и толстой кишок в случаях кишечной углеводной диспепсии и спру (Rothman a. Katz, 1964).

Цвет. Цвет испражнений у здорового человека зависит от нескольких причин, и прежде всего от количества стеркобилина (гидробилирубина), который образуется из биливердина при действии бактерий. Как правило, кал в норме имеет темно-коричневый цвет. Однако цвет может варьировать, что связано также с характером пищи. Молочная диета дает желтовато-коричневый оттенок, тогда как при диете, содержащей много белков, наблюдается темно-коричневое окрашивание. Растительная диета, со значительным количеством хлорофилла, вызывает зеленоватую окраску, свекла и морковь — красноватую, и т. д.

Для диагностики очень важны изменения цвета кала, связанные с патологическими нарушениями пищеварительного тракта. Избыточное количество желчи придает испражнениям желтоватое, зеленоватое или слегка кирпично-красное окрашивание.

Одним из показателей нарушения желчевыделительной функции печени или механического препятствия к прохождению желчи в кишечник является обесцвеченный («глинистый») кал.

Чрезмерное количество жира в кале делает его обычно более светлым. Довольно типичен внешний вид кала при изменении усвояемости жира, связанной с панкреатической недостаточностью или с патологией тонкой кишки (панкреатогенная или энтеральная стеаторрея). В этих случаях кал приобретает мазевидный характер, поверхность его становится блестящей, серого или желтовато-серого цвета.

Цвет кала зависит также от наличия в нем крови. Появление типичного черного дегтеобразного стула (maelena) иногда является первым признаком кровотечения в верхних отделах пищеварительного тракта (желудка, двенадцатиперстной кишки). Причиной кровотечения чаще всего могут быть язвы (особенно склонны к профузным кровотечениям постбульбарно расположенные язвы двенадцатиперстной кишки), рак желудка, разрыв расширенных вен нижнего отдела пищевода и верхней части желудка при портальной гипертензии (цирроз печени) и т. д. Если кал проходит через пищеварительный канал довольно быстро, то окрашивание его может быть вишнево-красным. Появление в кале видимой алой крови может быть обусловлено геморроидальными узлами, трещинами заднего прохода, острой дизентерией, язвенным колитом,

полипами дистального отдела толстой кишки, раковыми опухолями и т. д.

Чем ниже находится очаг кровотечения, тем ярче становится красный оттенок кала.

Цвет кала зависит не только от локализации очага кровотечения, но также и от количества крови, попавшей в кал. Чтобы окрашивание стало красным, примесь крови должна составить 6—10% (Алексеев-Беркман, 1954).

Ряд лекарственных веществ также может изменить цвет кала, особенно уголь (карболен), препараты железа, висмута, мышьяка (осарсол) (Алексеев-Беркман, 1954; Михайлова, 1962; Rothman a. Katz, 1964; Тульчинский, 1965).

З а п а х. Запах кала вызван продуктами распада пищи и присутствием ароматических веществ, обычно индола и скатола. Индол и скатол образуются путем дезаминирования и декарбоксилирования триптофана бактериями толстой кишки. При пище, богатой белками, запах усиливается, так как продукты гниения белков (метан, метил меркаптан, сероводород) обладают неприятным запахом.

Молочная диета дает кал почти без запаха. При чисто растительной диете кал обладает слабым запахом. Оральное введение антибиотиков, устраняя бактерии, способствующие редукции триптофана, предотвращает образование индола и скатола и снимает запах испражнений.

Чрезмерное количество продуктов гидролитического расщепления жира в кале дает едкий кислый запах, который наблюдается также при синдроме малабсорбции, что связано с наличием большого количества летучих жирных кислот.

При панкреатической стеаторрее жир часто не гидролизован, в связи с чем запах кала менее специфичен.

При острых энтеритах характерный водяной стул, как правило, связан с газом, количество и запах которого зависят от диеты и рода болезни.

При раке прямой кишки, язве дистальной части толстой кишки — запах гангренозный в связи с тем, что кал содержит гной, кровь и продукты распада опухоли.

С л и з ь. Обычно кал покрыт тонкой прозрачной пленкой слизи, частицы которой содержат альбумин, жир, клеточный экссудат. Увеличение количества слизи относится к патологическим случаям. Цвет ее зависит от примесей и может варьировать от коричневого гидробилирубинового до оранжевого, красного и зеленого, связанного с билирубином и биливердином. Кровь и гной также могут придавать слизи характерный цвет. Консистенция слизи колеблется от мягкой до более плотной и довольно твердой.

Исследование слизи имеет большое клиническое значение. Как правило, в основном слизь секретируется клетками толстой

кишки. Тонкая кишка не продуцирует слизь в таких количествах, как толстая, однако при энтеритах может наблюдаться чрезвычайно много слизи. Показателем происхождения слизи может быть то, каким образом она смешивается с калом. Если слизь покрывает хорошо сформированный кал или вкраплена между его комочками, то это указывает, что она из нижнего отдела толстой кишки. Если слизь хорошо смешана с калом, то ее происхождение связано с верхней частью толстой кишки.

При энтеритах мелкие комки слизи перемешаны с калом, тогда как в случаях колитов видны большие куски слизи.

Гной. Такие болезни, как неспецифические язвенные колиты, бациллярная дизентерия, туберкулез, распад опухоли и т. д. сопровождаются появлением большого количества гноя, который в большинстве случаев смешан с кровью и слизью.

Кровь. Наличие крови, как отмечено выше, отражается на цвете кала. Прожилки ярко-красной крови в образовавшемся кале указывают на поражения, локализованные в сигмовидной или прямой кишках, если исключен анальный канал. Ярко-красная кровь вместе с гноем и слизью в жидких выделениях обычно указывает на диффузное воспаление толстой кишки.

В случаях полипоза, дивертикулов, геморроя, эрозий и т. д. количество крови в испражнениях может варьировать. При этих заболеваниях кровь обычно находится на поверхности сформировавшихся каловых масс.

Туберкулез кишок и регионарные энтериты, как правило, дают мало крови.

МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Микроскопическое исследование каловых масс может быть источником ценной информации при ряде патологических состояний. Оно позволяет обнаружить элементы как экзогенного, так и эндогенного происхождения. К первым относятся остатки пищевых веществ, в частности мышечные и соединительнотканные волокна, растительная клетчатка, крахмал, остатки жировой пищи (нейтральный жир и продукты его гидролиза), яйца гельминтов, бактерии, вирусы, простейшие и пр. Ко вторым — клеточные элементы (лейкоциты, эритроциты, тканевые макрофаги, клетки кишечного эпителия, клетки опухолей и т. д.), кристаллические образования и пр. (Михайлова, 1962; Rothman a. Katz, 1964, и др.).

Для проведения анализа берется незначительное количество кала из различных мест и растирается в ступке с водой. Взвесь кала можно приготовить непосредственно на предметных стеклах, растирая кал, взятый петлей, с одной каплей дистиллированной воды или таким же количеством физиологического раствора (Тульчинский, 1965).

Для микроскопического исследования обычно приготовляются несколько различных типов препаратов водной эмульсии кала (Алексеев-Беркман, 1954; Михайлова, 1962; Тодоров, 1963; Rothman a. Katz, 1964; Тульчинский, 1965). Остановимся на некоторых из них.

1. Нативные препараты, которые позволяют дифференцировать большинство элементов кала (мышечные волокна, растительную клетчатку, нейтральные жиры, жирные кислоты, мыла, клеточный материал, яйца гельминтов, простейших и т. д.). В норме в этих препаратах видны единичные лейкоциты и частично переваренные мышечные волокна. При энтероколитах число лейкоцитов увеличивается, при гемоколитах — появляются также и эритроциты.

2. Препараты, окрашенные раствором Люголя двойной концентрации, в которых обнаруживаются зерна крахмала, иодофильная флора, цисты простейших. В норме в препаратах отмечаются единичные зерна крахмала. Увеличение их количества указывает на недостаточность переваривания углеводов.

3. Препараты, окрашенные уксуснокислым раствором судана III для выявления жиров и продуктов их гидролитического расщепления. В норме в этих препаратах обычно наблюдаются отдельные капли нейтральных жиров и несколько частичек кристаллов жирных кислот и мыл. Увеличение их количества обусловлено недостаточностью переваривания жиров.

Кроме указанных препаратов, могут быть приготовлены препараты с калом, предварительно растертым с каплей глицерина для выявления яиц гельминтов (Михайлова, 1962).

Экзогенные элементы кала. Из экзогенных элементов кала наиболее широко представлен детрит, состоящий из продуктов распада клеток и остатков пищевых веществ, которых тем больше, чем полнее происходит переваривание (Михайлова, 1962). Из белковой пищи при микроскопии можно отметить мышечные и соединительнотканные волокна. В норме при малом увеличении микроскопа в кале наблюдается всего 1—2 обрывка мышечных волокон. Волокна соединительной ткани обнаруживаются при специальной обработке уксусной кислотой и при использовании поляризационного микроскопа, так как эти волокна обладают способностью к двойному лучепреломлению (Михайлова, 1962).

Для выявления остатков углеводной пищи, а именно растительной клетчатки и крахмала, Н. Д. Михайлова (1962) рекомендует использовать нативные препараты при 80—100-кратном увеличении. Для дифференциации перевариваемой и неперевариваемой растительной клетчатки автор предложил окраску препаратов реактивом Аманна. В этом случае в синий цвет окрашивается лишь перевариваемая клетчатка. Крахмал выявляется, как отмечено выше, при обработке препаратов иодом, при этом он окрашивается

в черно-синий цвет, а продукты его гидролиза — в фиолетовый (амилодекстрины) и красно-бурый (эритродекстрины).

В норме в кале крахмал и декстрины отсутствуют. Они встречаются преимущественно при дисфункции тонкой кишки, ускоренном пассаже химуса, панкреатической недостаточности.

Остатки жировой пищи выделяются преимущественно в виде мыл, которые обнаруживаются в форме ромбовидных кристаллов и желто-коричневых глыбок. В норме кал почти совсем не содержит нейтральных жиров. Тем не менее последние в единичных случаях отмечаются в виде бесцветных капель, при окрашивании приобретающих оранжево-красный цвет. Жирные кислоты встречаются в виде капель (легкоплавкие жирные кислоты), глыбок (тугоплавкие жирные кислоты) и кристаллов, имеющих форму игл (Михайлова, 1962; Rothman a. Katz, 1964).

Эндогенные элементы кала. К эндогенным элементам кала, как было отмечено ранее, относятся форменные элементы крови, слизь, тканевые макрофаги, кишечные клетки и т. д.

Лейкоциты в норме обнаруживаются в единичных случаях. Увеличение их количества свидетельствует о воспалительных процессах в кишечнике. При специальной окраске препаратов можно выявить лейкоциты с сегментированными и несегментированными ядрами, а также нейтрофилы и эозинофилы, что имеет некоторое диагностическое значение (Михайлова, 1962).

Эритроциты могут быть обнаружены в кале при кровотечениях в толстой кишке, главным образом в ее дистальном отделе (Алексеев-Беркман, 1954; Михайлова, 1962; Rothman a. Katz, 1964). Окраска препаратов 1%-м водным раствором эозина оказывает значительную помощь в выявлении эритроцитов.

Слизь при малом увеличении микроскопа выглядит в виде светлых комочков или тяжей и окрашивается смесью 0.2%-й бриллиантовой зелени и 1%-й нейтральной красной в светло-красный цвет (Михайлова, 1962).

Тканевые макрофаги отличаются от лейкоцитов большим размером и крупным ядром.

Клетки кишечного эпителия попадают в кал при десквамации и в норме встречаются довольно редко. В большинстве случаев они вкраплены в комочки слизи (Михайлова, 1962). Появление большого количества кишечных клеток в кале может быть признаком энтерита.

Кристаллические образования наблюдаются в кале сравнительно часто, в частности могут быть обнаружены кристаллы холестерина и др.

Клетки злокачественных опухолей могут поступать в каловые массы в том случае, если опухоль локализована в прямой кишке. В противном случае клетки подвергаются соответствующим изменениям, что в значительной степени препятствует их распознава-

Таблица 6

Копрограммы при различных патологических состояниях органов пищеварения.
(По: Михайлова, 1962, стр. 138—139)

Копрологический синдром	Стеркобилин	Билирубин	Мышечные волокна	Соединительная ткань	Нейтральный жир	Жирные кислоты	Мыла	Крахмал	Перевариваемая клетчатка	Иодофильная флора
Нормальный кал	+	—	±	—	—	—	+	—	—	—
Недостаточность желудочного переваривания	+	—	++	++	—	—	++	+	+++	+
Недостаточность поджелудочной железы	+	—	+++	±	+++	±	±	++	++	+
Отсутствие желчи	—	—	+	—	+	+++	+	++	++	—
Недостаточность переваривания в тонком кишечнике	—	+	++	—	++	++	++	+++	+++	+
Недостаточность переваривания в толстом кишечнике:										
бродильная диспепсия	+	—	±	—	—	+	±	+++	+++	+++
гнилостная диспепсия	+	—	+	—	±	—	++	±	++	±

11 Заказ № 1392

нию. Особенностью этих клеток является полиморфизм: различная величина и форма, беспорядочное расположение и т. д. (Михайлова, 1962).

В связи с тем, что микроскопический метод исследования кала подробно изложен в ряде соответствующих доступных руководств (Алексеев-Беркман, 1954; Михайлова, 1962; Bockus, 1964; Ногаллер, 1966, и др.), мы позволим себе не останавливаться на нем более подробно. Ограничимся лишь частью сводной таблицы из монографии Н. Д. Михайловой (1962), где приведены копрограммы, полученные при микроскопическом анализе кала (табл. 6).

ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

В настоящее время химический анализ кала находит все более широкое применение. Он дает возможность на основании достаточно объективных тестов судить о функциональном состоянии желудочно-кишечного тракта и о процессах, происходящих в нем как в норме, так и при патологии.

Реакция. Реакция кала в нормальных условиях колеблется от pH 6.8 до 7.5. При мясной диете она обычно щелочная, при растительной — более кислая. Кал с избытком жира также дает кислую реакцию. Необходимо отметить, что наружная часть каловых масс может иметь другую реакцию, чем внутренняя.

При патологии реакция может быть сильно смещена. При сдвиге реакции кала в щелочную сторону чаще всего есть основание думать о наличии хронического колита, преимущественно правосторонней локализации. Болезни желудка, приводящие к гастрогенной диаррее, также могут оказывать влияние на реакцию кала.

Отсутствие или заметное уменьшение панкреатической секреции дает кислую реакцию. Затруднения в оттоке желчи сказываются на соответствующем эмульгировании жира и также сдвигают реакцию в сторону кислой. Добавление лактозы к диете с высоким содержанием углеводов вызывает дальнейшее увеличение кислой реакции.

Кислая реакция в определенной степени является косвенным показателем также и недостаточной ассимиляции углеводов, обусловленной ферментативными нарушениями в тонкой кишке, усиленной моторикой последней, энтеритами и т. д.

Реакция кала исследуется обычно ориентировочно лакмусовой бумажкой. Для более точного определения pH кала можно пользоваться универсальной индикаторной бумагой или потенциометром (Алексеев-Беркман, 1954; Михайлова, 1962; Тодоров, 1963; Rothman a. Katz, 1964; Тульчинский, 1965).

Азот. Содержание азота в кале зависит от экзогенных и эндогенных факторов (Алексеев-Беркман, 1954). Экзогенные фак-

торы включают в себя количество и качество пищи и продукты ее гидролиза, эндогенные факторы — кишечные секреты, не подвергшиеся всасыванию, пищеварительные жидкости, десквамированные эпителиальные клетки слизистой, слизь, ферменты, бактерии и т. п. (Hildebrand, 1901; Алексеев-Беркман, 1954). Около половины белкового азота кала — бактериального происхождения (Rothman a. Katz, 1964).

У здоровых людей при обычной диете в желудочно-кишечном тракте усваивается около 92% белкового азота пищи. При нарушениях в деятельности поджелудочной железы ассимиляция белкового азота может быть снижена до 50%, что, однако, не исключает поражений без существенных изменений содержания азота в кале (Закржевский, 1961).

Натощак в норме выделяется около 0.25 г азота в день (Bockus a. oth., 1961). При смешанном питании выводится не более 10% принятого с пищей азота, что составляет за сутки 1.0—1.5 г (Михайлова, 1962).

В норме количество общего азота при введении 100—120 г белка в день колеблется от 2.0 до 2.5 г в сутки (Green a. Wollaeger, 1959; Pimparkar a. oth., 1961; Горжейши, 1967). Величина, превышающая 3 г в сутки, указывает на азоторрею, которая выявляется главным образом при панкреатической недостаточности и реже при синдромах спру и малабсорбции. Однако при нетропической форме спру в 58% случаев также было обнаружено увеличение азота в кале (Comfort a. oth., 1953).

Я. Горжейши (1967) отмечает, что количество выделяющегося азота в кале может доходить при различных желудочно-кишечных нарушениях (при гипертрофическом гастрите, болезни Крона, язвенном колите, кишечном дивертикулезе, язвенном еюните и др.) до 5 г в сутки.

Общее количество азота в кале — «общий азот» — определяется по методу Кьельдаля, основанному на принципе минерализации белка и азотсодержащих веществ при сжигании их с концентрированной серной кислотой. Этот метод требует высушивания кала до постоянного веса (Калицинский, 1965).

Л. М. Модель в 1931 г. предложил более простую модификацию метода определения азота и жира в свежих фекалиях. Для этого к 0.5 г свежего кала добавляется 5 мл концентрированной серной кислоты и 5 мл дистиллированной воды. После гомогенизации 1 мл смеси переносят в специальную пробирку из тугоплавкого стекла и сжигают на песочной бане, прибавив для ускорения минерализации 3—4 капли пергидроля. Затем в остывшую пробирку добавляют 10 мл дистиллированной воды, 1.55 мл 50%-го раствора едкого натрия, 0.5 мл реактива Несслера и колориметрируют. Содержание общего азота исчисляется на суточное количество кала. Для вычисления белка найденную величину азота умножают на 6.25 (Алексеев-Беркман, 1954; Михайлова, 1962).

Определение общего азота в кале, по-видимому, не может быть широко использовано для диагностики заболеваний пищеварительного аппарата, так как его увеличение является как следствием дефектов процессов ассимиляции белковых веществ, поступающих с пищей, так и результатом воспалительных изменений слизистой тонкой кишки, в частности энтероколитов.

Ж и р. Жир, представленный в кале, может быть, как и азот, экзогенного и эндогенного происхождения. Он находится в трех формах: нейтральный жир, жирные кислоты и мыла (щелочные и щелочно-земельные соли жирных кислот). Их относительные пропорции зависят от процессов пищеварения и всасывания. Количество жировых веществ в кале может быть в какой-то степени критерием усвоения жира в организме.

В норме количество жира в кале довольно постоянно и не зависит от диеты (Rothman a. Katz, 1964; Kalser, 1964). Общий жир в среднем составляет 15—20% сухого веса кала. По одним данным суточное выведение общего жира в норме колеблется от 3 до 5 г (Тульчинский, 1965), по другим — от 0.57 до 1.21 г (в среднем 0.97 г), что составляет около 26—35% сухого веса кала (табл. 7).

Таблица 7

Количество экскретируемого жира в кале в норме.
(По: Rothman a. Katz, 1964, стр. 718)

Количество жира	Колебания	Ср. величина
Сухое вещество, % от свежего кала	4.6—38.0	21.1
Общий жир, % от сухого вещества	7.3—27.6	17.5
Нейтральный жир, % от сухого вещества . . .	2.5—11.8	7.3
Свободные жирные кислоты, % от сухого вещества	1.05—10.0	5.6
Связанные жирные кислоты, % от сухого вещества	0.54—11.4	4.6

В нормальных условиях содержание выделенного с калом жира не превышает 10% и составляет обычно около 5% жира пищи (Закржевский, 1961).

Ряд исследований, необходимых для диагностики, может быть проведен на фоне определенных пищевых рационов, а также с пищевыми нагрузками жиром (Lablé et al., 1925; Sheehy a. Floch, 1964, и др.).

Увеличение количества жира в кале (стеаторрея) чаще всего связано с нарушением поступления секретов поджелудочной железы (хронический панкреатит) или с выраженным атрофическим процессом в тонкой кишке. Некоторое увеличение количества

жира в кале может быть отмечено при недостаточном поступлении желчи в кишечник (паренхиматозное поражение печени, механическое препятствие к поступлению желчи в кишечник), а также при ряде других заболеваний (Михайлова, 1962).

Для определения жира в кале существуют различные методы. Одним из наиболее быстрых является флотационный способ (Kalser, 1964). В стеклянный цилиндр помещается суспензия кала в гипертоническом растворе сернокислой меди (уд. вес 1.018). Через 20 мин. проводится количественное определение по отношению между разделенным материалом. Однако, несмотря на ряд достоинств, этот метод не совсем удачен.

Более точным методом определения жира в кале является метод баланса. Для этого химическим способом анализируется содержание жира в пище и кале. Пища, которая дается больному, дублируется для анализа. Коэффициент всасывания рассчитывается по формуле

$$\frac{(\text{жир диеты} - \text{жир кала}) \times 100}{\text{жир диеты}}.$$

Коэффициент всасывания в норме составляет около 94% (Kalser, 1964).

Однако, как отмечает П. Фрумузан (1961), этот метод достаточно труден. Он рекомендует пользоваться методом с использованием прохождения через кишечник липоидов, к которым добавлен барий. Этот способ заключается в пероральном введении тонкоэмульгированной смеси оливкового масла и желчных солей в воде с сульфатом бария. В испражнениях, содержащих барий, определяется отношение жиров к сульфату бария, которое позволяет при сопоставлении с их исходным соотношением установить степень всасывания. У здоровых людей коэффициент резорбции приближается к 90—100%.

Хорошо известен метод Ван де Камера (Van de Kamer a. oth., 1949; Дерецкий, 1965), который основан на том, что жир и жирные кислоты могут быть количественно экстрагированы петролейным эфиром из кислого раствора 60%-го этанола, содержащего хлористый натрий и небольшое количество амилового спирта. Свободные жирные кислоты титруются, и результат выражается в процентах или граммах нейтрального жира в 24-часовой пробе. Содержание жирных кислот в норме в кале колеблется в пределах 5.5—11.5% (Дерецкий, 1965).

Фразер (Frazer, 1955), Пимпаркар и др. (Pimparkar a. oth, 1961), пользуясь этим методом, установили, что в норме при обычной диете, содержащей 50—150 г жира, выведение его в сутки составляет 5—7 г. Количество жира, превышающее эту величину, указывает на наличие симптомов стеаторреи.

Методы количественного определения жира в кале приводятся в целом ряде работ (Saxon, 1914; Fowweather, 1926; Алек-

сеев-Беркман, 1954; Михайлова, 1962; Джорджеску и Пэунеску, 1963; Webb, 1965). Для определения общего жира и жировых фракций нейтральных жиров и свободных жирных кислот И. Тодоров (1963) рекомендует метод Кинга и Вуттона (King a. Wootton, 1956).

В настоящее время клиницисты и гастроэнтерологи имеют возможность использовать радиоактивные жиры (J^{131}-олеиновую кислоту и J^{131}-триолеин) для диагностики дефектов всасывания. Сбор кала проводится так же, как и для химического анализа, однако в течение более длительного срока (48—96 часов). Исследуется общая радиоактивность кала, которая выражается в процентах от введенной дозы.

Верхняя граница нормы при сборе кала в течение 72—96 часов —7% введенной дозы (Pimparkar a. oth., 1961; Sheehy a. Floch, 1964), при сборе кала в течение 48 часов — 2% (Ruffin a. oth., 1958) и, по данным Гроссмана и Иордана (Grossman a. Jordan, 1958), при сборе кала в течение 72 часов — 5.1%. Кишечные заболевания, в частности стеаторрея, характеризуются радиоактивностью кала, которая отклоняется от нормального уровня (см. также «Методы исследования пищеварительных и резорбтивных функций тонкой кишки»).

Желчные пигменты. Продукты разрушения гемоглобина выводятся из организма двумя путями: с мочой и с калом. Билирубин образуется в ретикуло-эндотелиальных клетках в результате окисления гемоглобина и выделяется вместе с желчью. Билирубин, поступающий в кишечник, под влиянием бактериальной флоры толстой кишки, с одной стороны, и остальных составных частей желчи, с другой, превращается в бесцветное соединение — уробилиноген. Благодаря дальнейшему восстановлению, происходящему под действием кишечных бактерий, образуется стеркобилиноген, который затем переходит в цветной стеркобилин.

В норме дневная экскреция уробилиногена в кале составляет 40—280 мг, в среднем 160 мг (Rothman a. Katz, 1964).

Уробилин возникает при дегидрогенизации уробилиногена. С калом за сутки выделяется 250—500 мг восстановленных производных расщепления желчного пигмента (Штрауб, 1963).

Качественное определение билирубина и уробилиногеновых и соответственно уробилиновых тел в кале производится так же, как и в моче, только вместо мочи берется водная суспензия кала. Все пробы, приводимые ниже, основаны на окислении билирубина в биливердин, который делает пробу положительной.

Проба по Кальку и Вильдхирту. Принцип метода: метиленовая синь окисляет билирубин в биливердин. К 5 мл водной суспензии кала добавляется 2 капли 0.25%-го водного раствора метиленовой сини. Переход в зеленый цвет означает положительный результат (Ваплер, 1960).

Иодная проба Розина. Окисление билирубина в биливердин производится 1%-м спиртовым раствором иода, который при окислении переходит из молекулярного (электронейтрального) в ионное состояние. Иод наслаивается на 10 мл водной суспензии кала, и при наличии билирубина на границе двух фаз появляется зеленое кольцо биливердина. Проба очень чувствительна (Ваппler, 1960).

Проба Труссо-Розина. В качестве окислителя берут иод в спиртовом растворе. При окислении иод переходит из молекулярного в ионное состояние. В узкую пробирку наливают 2—3 мл раствора кала (если нужно, подкисленного 10%-й уксусной кислотой) и осторожно наслаивают 0.5—1.0 мл 1%-го спиртового раствора иода. При наличии билирубина на границе между обеими жидкостями образуется зеленое кольцо. Присутствие крови также делает пробу положительной (Тодоров, 1963).

Проба Гмелина. Окисление билирубина в биливердин производится концентрированной азотной кислотой. На 1 мл раствора кала наслаивается равное количество концентрированной азотной кислоты. При наличии билирубина в месте соприкосновения жидкостей появляется изумрудно-зеленое кольцо (Ваппler, 1960).

Количественное определение билирубина в каловых массах можно провести по методу Иендрашека и Грофа (Jendrassik u. Grof, 1938b; Тодоров, 1963).

Качественными пробами на стеркобилин является проба Шмидта (Михайлова, 1962; Тульчинский, 1965), при которой в присутствии стеркобилина кал приобретает розово-красное окрашивание, и реакция с уксусно-кислым цинком, или проба Шлезингера, где стеркобилин образуется вследствие окисления бесцветного стеркобилиногена при содержании суспензии кала на воздухе и свету (Ваппler, 1960; Михайлова, 1962). И. Тодоров (1963) отмечает, что пробу Шлезингера лучше проводить с эфирным экстрактом предварительно подкисленного кала.

Количественное определение стеркобилина и стеркобилиногена можно провести по способам Адлера (Алексеев-Беркман, 1954; Михайлова, 1962), Тервена (Михайлова, 1962) и методами Шварца и др. (Schwartz a. oth., 1944), Юнга и др. (Young a. oth., 1949), Гельмейера и Кребса (Heilmeyer u. Krebs, 1931) и Уита (With, 1942), которые рекомендует И. Тодоров (1963), также как и метод Нательсона, подробно приведенный им.

Качественное и количественное определение уробилина (стеркобилина) дано также в «Руководстве по клиническим и лабораторным исследованиям» под ред. Л. Г. Смирновой и Б. А. Кост (1960).

Однако следует отметить, что изолированное определение желчных пигментов в кале не имеет большого значения в клинике,

так как экскреция этих веществ колеблется в значительных пределах и в норме.

Количественное определение продуктов пигментного обмена в кале приобретает большее значение при параллельном исследовании их в моче. Сопоставление выделения за сутки уробилина с мочой и стеркобилина в кале может дать дополнительную информацию при проведении дифференциальной диагностики различных видов желтух. В частности, увеличенное количество стеркобилина в кале подтверждает наличие гемолитической желтухи.

Ферменты. Все ферменты, выделяемые различными отделами желудочно-кишечного тракта, почти на 99% подвергаются разрушению в толстом кишечнике. Из ферментов, обнаруживаемых в кале, чаще всего исследуются трипсин, амилаза, липаза, энтерокиназа, щелочная фосфатаза, инвертаза.

Трипсин является одним из важнейших ферментов поджелудочной железы, расщепляющим белки и пептиды (см. также «Методы исследования поджелудочной железы»).

Тесты с определением триптической активности используются обычно для выявления панкреатической недостаточности. Однако, как отмечает Е. Б. Закржевский (1961), определение ферментов поджелудочной железы в кале весьма ненадежно.

Качественное определение трипсина было предложено рядом авторов (Schwachman a. oth., 1943, 1949, 1955; Shively a. Markey, 1952).

Принцип метода основан на том, что слой желатины рентгеновской или кинопленки растворяется под действием трипсина кала, так что обычно непрозрачная пленка становится прозрачной (предварительно пленка в течение 35 мин. должна находиться в воде для проверки прочности слоя желатины). Далее в трубку с водной суспензией кала в разведении 1 : 10 помещается полоска не фиксированной и не проявленной пленки. Затем трубка с пленкой переносится на 35 мин. в водяную баню при 37°, после чего пленка исследуется на ясность.

В ряде случаев применяются модификации этого метода, в которых на непроявленную рентгеновскую пленку наносится со стороны имульсии водная суспензия кала в различных разведениях (Михаэлис, 1960) или фильтрат кала и 10% водного раствора глицерина также в различных разведениях. Вместо рентгеновской пленки можно использовать поверхность свернутой в чашке Петри леффлеровской сыворотки (Михайлова, 1962).

В кале у детей трипсин находится в довольно больших количествах. С возрастом его количество уменьшается, и у большинства взрослых отмечается отрицательный результат, особенно если дефекация происходит не часто.

Необходимо отметить, что в присутствии некоторых бактерий, находящихся в кале (главным образом после употребления антибиотиков), может также наблюдаться положительная реакция.

Количественное определение трипсина обычно производится методом Гросса и Гольдшмидта, где содержание трипсина оценивается по количеству 0.1%-го раствора казеина, которое может быть переварено 1 г кала (Алексеев-Беркман, 1954; Михайлова, 1962). В норме в фекальных массах содержится около 30 ед. трипсина. Более современные методы исследования приведены в разделе «Методы исследования поджелудочной железы».

Липаза — фермент поджелудочной железы, осуществляющий начальные стадии гидролиза триглицеридов. Методы определения липолитической активности в большинстве случаев основаны на способности липазы расщеплять эфиры жирных кислот с образованием свободных жирных кислот.

Качественная проба Эйнгорна на присутствие в кале липазы основана на обесцвечивании смеси 1 г оливкового масла, 2.5 г агар-агара, 1.0 мл фенолфталеина, 0.5 мл раствора едкого кали и 100 мл воды разжиженным калом. Степень расщепления жира определяется по длине обесцвеченного столбика смеси (Алексеев-Беркман, 1954).

Количественное определение липазы может быть проведено по методу Комфорта (Comfort, 1937), где вместо сывороточной липазы используется водная смесь кала. Посредством титрования н./20 раствором едкого натра определяется количество оливкового масла, расщепленного липазой, содержащейся в 1 мл суспензии кала (Михаэлис, 1960).

И. А. Алексеев-Беркман (1954), Н. Д. Михайлова (1962), П. Джорджеску и Е. Пэунеску (1963) рекомендуют использовать метод, принцип которого основан на титровании свободных жирных кислот 0.92 н. или 0.1 н. раствором едкого натра в присутствии фенолфталеина в качестве индикатора.

Количественное определение липазы возможно также сталагмометрическим путем. Принцип этого метода основан на том, что жирные кислоты, выделяемые при ферментативном гидролизе трибутирина, изменяют поверхностное натяжение раствора. Поверхностное натяжение измеряется сталагмометрически, причем его изменение пропорционально количеству гидролизованного жира (Джорджеску и Пэунеску, 1963; см. также «Приложения»).

Амилаза — фермент, продуцируемый поджелудочной железой и осуществляющий гидролиз крахмала до мальтозы. Промежуточными продуктами реакции являются эритродекстрины и ахродекстрины. Отсутствие или уменьшение содержания амилазы в кале может быть связано с панкреатической недостаточностью, со способностью поверхности тонкой кишки адсорбировать амилазу или с разрушением фермента при усилении процессов гниения в кишечнике.

Метод Вольгемута, предлагаемый в большинстве руководств для определения амилолитической активности, в значительной степени устарел.

Целесообразнее пользоваться более современным и точным методом Смита и Роя (Smyth a. Roe, 1949; «Приложения»). Принцип метода заключается в определении содержания крахмала по оптической плотности иодкрахмальных комплексов. Метод основан на определении убыли крахмала при его гидролизе по изменению окраски иодкрахмального раствора в фотоэлектрическом колориметре.

Энтерокиназа — фермент, активирующий трипсиноген и превращающий его в трипсин. Энтерокиназа синтезируется слизистой преимущественно проксимального отдела тонкой кишки и может служить показателем ее функционального состояния. Данные, полученные при определении энтерокиназы в фекалиях, отражают также и некоторую сторону ее деятельности в толстых кишках, хотя этот фермент почти целиком разрушается и в кале в норме почти не выявлен (Михлин, 1961).

Метод определения энтерокиназы, предложенный Г. К. Шлыгиным, основан на активировании ею специального препарата поджелудочной железы, содержащего неочищенный трипсиноген, с последующим выявлением триптической активности, вызванной специфическим действием энтерокиназы.

За единицу активности энтерокиназы принимается минимальное количество энтерокиназы, способное вызвать в данных условиях триптическую активность (Беюл, 1961; Методические письма, в. 19, 1962а; Михайлова, 1962; Шлыгин, 1964). Содержание энтерокиназы в кале в норме не превышает 10—20 ед./г.

Щелочная фосфатаза — фермент, обеспечивающий отщепление фосфата от моноэфиров фосфорной кислоты. Основная часть его находится в тонкой кишке. В кале щелочной фосфатазы мало, так как она подвергается значительному разрушению в толстой кишке.

У взрослых количество фосфатазы значительно возрастает при некоторых заболеваниях, особенно при дизентерии и хронических колитах. В норме в кале содержится около 50—450 ед./г фермента (Михлин, 1955; Беюл, 1961).

Метод определения щелочной фосфатазы основан на освобождении фосфатазой фенолфталеина из фенолфталеинфосфата натрия. Фенолфталеин в щелочной среде приобретает красное окрашивание, интенсивность которого находится в прямой связи с концентрацией фосфатазы (Фомина и др., 1952; Методические письма, в. 20, 1962б; Михайлова, 1962).

Г. А. Горелов (1964) предложил модификацию этого метода, которая упрощает и ускоряет определение щелочной фосфатазы и позволяет целый ряд пробирок заменить одной градуированной.

Инвертаза — собственно кишечный фермент, осуществляющий гидролиз сахарозы. Определение ее в кале служит критерием функционального состояния тонкой кишки.

Н. Д. Михайлова (1962) предлагает использовать метод определения активности инвертазы, основанный на выявлении количества сахарозы, которое может быть инвертировано 1 г кала.

Кроме этого метода, можно рекомендовать колориметрический мышьяково-молибденовой метод Нельсона (Nelson, 1944), основанный на определении прироста редуцирующих сахаров, образованных в результате гидролиза субстрата инвертазой, по цветному окрашиванию. С соответствующими адаптациями он может быть использован при проведении копрологического анализа.

Количественное определение панкреатических ферментов в кале (трипсина, липазы, амилазы) имеет для диагностики заболеваний поджелудочной железы значительно меньшее значение, чем определение этих же ферментов в крови и особенно в дуоденальном содержимом.

Количество панкреатических ферментов в кале увеличивается при усиленной перистальтике кишечника, более быстром прохождении химуса. При заболеваниях поджелудочной железы может наблюдаться уменьшение количества этих ферментов или же полное их отсутствие.

Увеличение содержания кишечных ферментов в кале находится в определенной корреляции с тяжестью поражения толстой кишки. При тяжелых формах хронического колита увеличение содержания кишечных ферментов в кале встречается чаще и значительно более выражено, чем у больных с легкой формой заболевания.

Кровь. Исследование кала на наличие в нем крови имеет большое диагностическое значение для выявления локализации кровотечений, изъязвлений, новообразований в желудочно-кишечном тракте.

В настоящее время с этой целью используются только химические методы исследования кала (Шелагуров, 1964). Принцип, лежащий в основе химических методов определения крови, — конверсия определенного индикатора (бензидина, гваяковой смолы, пирамидона), которому требуется источник кислорода (перекись водорода или бария) и пероксидаза (гемоглобин) для катализа химической реакции. Сам гемоглобин не дает окрашивания, он является катализатором.

Проба кала должна быть взята из внутренней и наружной части образца и определяться отдельно.

Положительная реакция каловых масс на присутствие крови указывает на проксимальный источник кровотечения; при более дистальных кровотечениях кровь находится обычно на поверхности.

Результаты химического исследования кала на кровь часто трудны для интерпретации, так как положительный тест может наблюдаться и без кровотечения. Это зависит как от диеты, так и от пероксидазной активности гема. Пероксидазы, находящиеся в мясе и гное, способны без крови давать положительную реакцию.

Поэтому перед исследованием больному в течение 3—7 дней не следует давать мяса и рыбы (Шелагуров, 1964).

Чаще всего употребляются бензидиновый, гваяковый и пирамидоновый тесты.

Наиболее чувствительной является бензидиновая проба, которая открывает минимальное количество крови (разведения 1 : 100 000—1 : 250 000).

Кифер (Kiefer, 1934) нашел, что по крайней мере 5 мл крови, введенной перорально, дают положительную реакцию с бензидиновым реактивом.

Бензидиновый раствор приготовляется добавлением 3—5 мл ледяной уксусной кислоты к небольшому количеству бензидина. Затем добавляется 0.5—3.0 мл перекиси водорода до молочного цвета, что указывает на наличие образующегося кислорода, и далее в 1 мл реагента вводится небольшое количество кала (1—2 мл взвеси). Появление голубой (синей) окраски указывает на положительную реакцию (Rothman a. Katz, 1964; Тульчинский, 1965).

Бензидиновая проба вследствие своей высокой чувствительности часто оказывается положительной и у здоровых людей. Поэтому на практике чаще применяют ее модификацию, предложенную Грегерсеном (Gregerson, 1919). Эта проба позволяет обнаружить около 0.2% крови (разведение 1 : 500).

Тест Грегерсена сходен с бензидиновым, но реагент в данном случае химически более стабилен. Порошок Грегерсена содержит 1 часть бензидинового основания и 8 частей перекиси бария. Небольшое количество порошка Грегерсена смешивается с 3—5 мл 50%-й уксусной кислоты, и к ним добавляется определенное количество водной суспензии кала. Быстрая реакция и интенсивность окраски указывают на тяжесть кровотечения (Алексеев-Беркман, 1954; Руководство по клиническим исследованиям, 1960; Михайлова, 1962; Тодоров, 1963; Rothman a. Katz, 1964).

Следует подчеркнуть, что благодаря большой чувствительности реакции ее положительный результат может быть связан с приемом в пищу веществ, обладающих каталитическими свойствами крови (мясо, рыба, томатный сок, зеленые части овощей). В связи с этим, как отмечено выше, больному в течение по крайней мере трех предшествующих дней (а при запорах и 7—8 дней) не следует давать с пищей названных выше веществ (Михайлова, 1962).

И. А. Алексеев-Беркман (1954) указывает, что исследованию на скрытую кровь подлежит лишь кал четвертой дефекации, независимо от числа дней соблюдения вышеуказанной диеты.

Вторым условием контроля положительной реакции кала на скрытую кровь является микроскопическое исследование кала на содержание в нем мышечных волокон. Присутствие последних свидетельствует о том, что исследуемый материал не соответст-

вует безгемоглобиновой диете и, следовательно, скрытое кровотечение может быть взято под сомнение. Однако, несмотря на крайне высокую чувствительность реакции Грегерсена к наличию скрытой крови в кале и на необходимость контроля (отсутствие мышечных волокон), клиническая и особенно поликлиническая практика показывают, что реакция на скрытую кровь в кале может быть у некоторых больных отрицательной и при несоблюдении вышеуказанной диеты. При этом в кале не удается обнаружить также и мышечных волокон или же имеются отдельные их обрывки. Удавалось наблюдать случаи небольших кровотечений из слизистой оболочки желудка при осмотре ее гастроскопом непосредственно после взятия биопсии, после которой реакция в кале на скрытую кровь, проводимая после каждой дефекации в течение ряда дней, оказывалась отрицательной.

У значительного числа больных язвенной болезнью при рентгенологическом симптоме «ниши» в желудке или двенадцатиперстной кишке (нередко также при несоблюдении необходимой диеты) реакция Грегерсена оказывалась отрицательной.

При более тщательном изучении у этой группы больных была обнаружена повышенная секреторная функция желудка, в частности большее количество желудочного сока, высокая концентрация в нем соляной кислоты и пепсина.

С другой стороны, при анацидных состояних даже небольшое нарушение диеты приводит к положительной реакции кала на скрытую кровь, причем в кале обнаруживаются и непереваренные мышечные волокна. Положительная реакция Грегерсена является почти постоянным и довольно ранним симптомом рака желудка. Известно, что рак желудка почти всегда развивается на фоне нарушенного желудочного пищеварения (снижение секреторной функции желудка).

Таким образом, наряду с ложно-положительной реакцией на скрытую кровь в кале может наблюдаться и ложно-отрицательная реакция.

Тест с гваяковой смолой не так чувствителен, как проба Грегерсена, и требует большего количества крови для развития положительной окраски. Этот метод обнаруживает не менее 5% крови. Положительный результат говорит о значительном кровотечении. Небольшие кровотечения этим методом не улавливаются.

Пирамидоновая проба по чувствительности стоит между двумя тестами, описанными выше (Михайлова, 1962).

Хунстман и Линделл (Hunstman a. Lindell, 1961) для упрощения и ускорения метода предложили бумажные полоски, пропитанные соответствующими реактивами (бензидином, гваяковой смолой, пирамидоном), которые могут быть использованы для определения крови в кале.

В настоящее время начинают использовать радиоизотопы для исследования желудочно-кишечного кровотечения. В частности,

для этой цели употребляется радиохром Cr^{51} (Hightower, 1962). На основании измерения радиоактивности кала и крови может быть рассчитана потеря крови в пищеварительный канал. Этот метод служит не только тестом потери крови, но и точным индексом ее количества (Rothman a. Katz, 1964).

Исследование жидкости кала. В норме кал содержит 70—80% воды. Для получения пробы свободной жидкости используется принцип диализа. Небольшой баллон с полупроницаемой мебраной, содержащий водный раствор поливинилпирролидона (ср. мол. вес 30 000), помещается в кал, вслед за чем производится анализ его содержимого. Лучшие результаты были получены при использовании баллона длиной 6 см и более и общей емкостью 2 мл (с завязанными концами), содержащего 15 мг поливинилпирролидона в 0.5—1.0 мл раствора.

Содержимое баллона, извлеченного из фекалиев, эквивалентно жидкости кала, так как в экспериментах показано, что через 2 часа содержимое баллона имело ту же концентрацию ионов натрия, калия, кальция и хлора, как и окружающая среда.

Радиологически было обнаружено, что баллон находился в толстой кишке в течение 3 часов. Баллон, помещенный в прямую кишку и извлеченный через 8 часов, имел тот же состав, что и баллон, введенный орально и вышедший при дефекации.

Жидкость, полученная этим методом, коричневого цвета, и ее запах сходен с запахом кала.

Химический состав жидкости кала из баллона можно считать аналогичным жидкости кала.

Определение брожения. Определение брожения, возникающего как проявление недостаточности переваривания крахмала, производится в страсбургских бродильных пробирках (Патцер, 1960).

Бродильную пробирку наполняют калом, разведенным дистиллированной водой, и ставят на 24 часа в термостат. В нормальном кале газ почти не отмечается или же он образуется в очень незначительных количествах. При усиленном образовании углекислого газа (10—40 мл через 24 часа) в том случае, если кал кислой реакции, надо думать о бродильной диспепсии. Эта проба может быть слабо положительной и при гнилостной диспепсии. Однако здесь образование газа вызывается так называемым вторичным брожением, которое появляется спустя 24—48 часов. Реакция кала при этом всегда щелочная.

Как можно видеть из всего вышеизложенного, анализ кала является весьма полезным для характеристики функционального состояния организма. Методы, о которых было сообщено выше, не исчерпывают всей информации, которая может быть получена

при различных исследованиях. Тем не менее в заключение следует еще раз отметить, что анализ кала является чрезвычайно важным для выявления заболеваний не только толстой кишки (органа, формирующего кал), но и других, подчас далеко отстоящих органов.

Таким образом, копрологическое исследование дает возможность с определенной приближенностью устанавливать нарушения ряда функций пищеварительной системы, что оказывает существенную помощь клиницистам.

ПРИЛОЖЕНИЯ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

А. М. Уголев, Н. М. Тимофеева

Для определения протеолитической активности наиболее распространенным является метод Энсона и Мирского (Anson a. Mirsky, 1932), который основан на количественном определении прироста свободного тирозина под влиянием протеаз во фракциях, не осаждаемых ТХУ (трихлоруксусная кислота). Однако более точно и более четко протеолитическая активность выявляется в случае определения количества освобождаемых α-аминокислот методом Мура и Стейна (Moore a. Stein, 1948). Кроме того, применение последнего метода дает возможность использовать в качестве субстрата желатин, который содержит незначительное количество тирозина. Поэтому для определения протеолитической активности различных источников ферментов(поджелудочный сок, содержимое тонкой кишки, гомогенаты тканей и т. д.) можно рекомендовать метод Мура и Стейна.

Ферментативная активность определяется по приросту свободного аминоазота, образовавшегося при гидролитическом расщеплении белковых субстратов.

Принцип метода заключается в том, что аминокислоты, содержащие α-аминогруппу, реагируют с нингидрином, давая окрашенный в синий цвет продукт, согласно следующему уравнению:

$$\mathrm{R-\overset{\overset{NH_2}{|}}{C}H-COOH} + 2\,\mathrm{C_6H_4}\left<\begin{matrix}\mathrm{C{=}O}\\ \mathrm{C{=}O}\end{matrix}\right>\mathrm{C}\left<\begin{matrix}\mathrm{OH}\\ \mathrm{OH}\end{matrix}\right. \longrightarrow$$

$$\longrightarrow \text{C=O},\ \text{C—N=C},\ \text{C—OH},\ \text{C}(=\text{O}),\ \text{C}(=\text{O}) + \overset{\text{H}}{\text{RCO}} + CO_2\uparrow$$

Это сложное соединение характеризуется пиком поглощения при 570 ммк. Интенсивность окраски прямо пропорциональна количеству присутствующих аминокислот.

Аминоазот определяется в исследуемых ферментативно-активных растворах, инкубированных с белковыми субстратами, после предварительного осаждения белков 10%-м раствором ТХУ.

Реактивы.

1. Казеин (в виде сухой навески в 50 мг).
2. Желатин (в виде сухой навески в 50 мг).
3. Цитратный буфер. 0.2 М (pH 5.0) буфер готовится растворением 21.008 г лимонной кислоты в 200 мл 1 н. раствора NaOH и последующим разведением до 500 мл дистиллированной водой. В этом объеме растворяется 800 мг $SnCl_2$. Раствор хранится на холоду. Для предохранения от бактериального загрязнения добавляется несколько кристаллов тимола.
4. Метилцеллосольв.
5. 2%-й раствор нингидрина. Готовится растворением навески нингидрина в смеси равных объемов метилцеллосольва и цитратного буфера; приготовленный раствор может быть использован в течение 3—4 дней при хранении на холоду.
6. 10%-й раствор ТХУ.
7. 96°-й этиловый спирт.

Ход определения. В пробирку с исследуемым раствором после инкубации смеси 50 мг субстрата и 1—2 мл ферментативно-активного раствора приливается 3 или 5 мл 10%-го раствора ТХУ.

Пробы периодически перемешиваются в течение 7—10 мин. для полного осаждения белков и затем, после предварительного взбалтывания, фильтруются или центрифугируются.

Далее, 0.1 мл фильтрата или надосадочной жидкости добавляется к 1 мл 2%-го раствора нингидрина и пробирки, закрытые стеклянными колпачками во избежание испарения, ставятся в кипящую водяную баню на 20 мин. После кипячения окрашенные в синий цвет пробы охлаждаются и в каждую из них приливается по 5 мл смеси этилового спирта с дистиллированной водой в отношении 1 : 1 (по прописи Мура и Стейна используется смесь пропилового спирта с водой в таком же отношении). Водно-спир-

12 Заказ № 1392

товая смесь сохраняет окраску устойчивой в течение нескольких часов. Интенсивность окраски определяется на ФЭК-Н-57 с фильтром № 6 через 10—15 мин. после ее развития в 5-миллиметровых кюветах против контрольного раствора, который готовится из тех же реактивов и в том же количестве, что и опытный, только к 3 или 5 мл 10%-го раствора ТХУ приливается 1—2 мл раствора Рингера или другого буферного раствора.

Прирост свободного аминоазота определяется при сравнении показаний опытного и стандартного растворов, где вместо исследуемого раствора к раствору ТХУ добавляется 2 мл 0.2%-го раствора глицина или 0.1%-го раствора тирозина, и далее ход определения тот же, что и в опыте, и выражается в микрограммах глицина или тирозина за 1 мин.

Расчет производится следующим образом:

В 2 мл 0.2%-го раствора глицина содержится 4000 мкг глицина, что соответствует определенному показанию ФЭК. Тогда, зная показания ФЭК опыта, мы можем определить X:

ФЭК глицина — 4000 мкг
ФЭК опыта — X,

где X — прирост глицина в мкг за время инкубации.

$$\frac{X}{\text{Время инкубации}} = \text{Прирост глицина (в мкг) за 1 мин.}$$

Кроме того, этот метод может быть также использован для определения пептидазной активности. В этом случае в качестве субстрата применяются различные пептиды.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕПТИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ

А. М. Уголев, Н. М. Тимофеева

Для определения пептидазной активности нами была разработана методика, основанная на определении глицина, освобождающегося при действии пептидаз на субстрат, содержащий в своем составе глицин. Известно, что при действии гипогалогенита щелочного металла на α-аминокислоты последние декарбоксилируются и дезаминируются с образованием альдегидов, содержащих на один атом углерода меньше, чем в исходной аминокислоте.

Глицин легко разлагается с образованием формальдегида под влиянием хлорамина Т, являющегося производным гипохлорита. При действии хлорамина Т происходит не слишком сильное окисление формальдегида, вследствие чего он может быть обнаружен реакцией с хромотроповой кислотой (Файгль, 1962).

Эта реакция разработана и впервые описана Играйвом (Eegriwe, 1937) и специфична в ряду аминокислот.

При нагревании формальдегида с хромотроповой кислотой (1,8-диоксинафталин-3,6-дисульфокислота) в присутствии серной кислоты появляется фиолетово-розовое окрашивание.

Химизм реакции точно не установлен. Возможно, что первым этапом этой реакции является конденсация с формальдегидом (1), так как известно, что ароматические оксисоединения при конденсации с формальдегидом образуют бесцветные оксидифенилметаны.

Во втором этапе, по-видимому, происходит окисление образованного продукта в п-хиноидное соединение (2). Концентрированная серная кислота является наиболее эффективным конденсирующим агентом и окислителем, поэтому наибольшая чувствительность достигается при реакции формальдегида с хромотроповой кислотой в присутствии концентрированной серной кислоты (Файгль, 1962).

Этот принцип мы положили в основу разработанного нами метода определения пептидазной активности.

Александером и др. (Alexander a. oth., 1945) был разработан колориметрической метод определения глицина в крови и моче, также основанный на цветной реакции с хромотроповой кислотой формальдегида, который получается после дезаминирования глицина нингидрином. Метод является достаточно чувствительным и точным, однако обладает большим недостатком: для удаления нингидрина производится длительная перегонка, что значительно удлиняет и осложняет анализ.

В нашей модификации при определении глицина не требуется перегонки, так как вместо нингидрина применяется хлорамин Т.

Р е а к т и в ы.

1. 0.2%-й раствор или 0.5%-й раствор того или иного ди-, три- или тетрапептида, содержащего глицин (например, глицил-l-лейцин, глицил-dl-лейцин и др.), используемый в качестве субстрата при инкубации с ферментактивным раствором.
2. 10%-й раствор трихлоруксусной кислоты (ТХУ).
3. 0.5%-й раствор хлорамина Т.
4. 5%-й раствор хромотроповой кислоты или ее динатриевой соли.
5. Концентрированная H_2SO_4.

1. (HO)(HO)-нафталин-(SO_3H)(SO_3H) $+ CH_2O \longrightarrow$ (HO)(HO)(HO_3S)(HO_3S)-нафталин$-CH_2-$нафталин(SO_3H)(SO_3H)(OH)(OH) $+ H_2O$

HO_3S SO_3H

$HO-$ … $-CH_2-$ … $-OH$

$HO-$ … $-OH$ $+ O \rightarrow$

HO_3S SO_3H

2.

HO_3S SO_3H

$HO-$ … $-CH=$ … $=O$

$HO-$ … $-OH$ $+ H_2O$

HO_3S SO_3H

Ход определения. Исследуемый ферментативно-активный раствор (различные пищеварительные соки, содержимое тонкой кишки, вывернутые кусочки тонкой кишки, кишечные гомогенаты, а также гомогенаты других тканей и т. д.) инкуби-

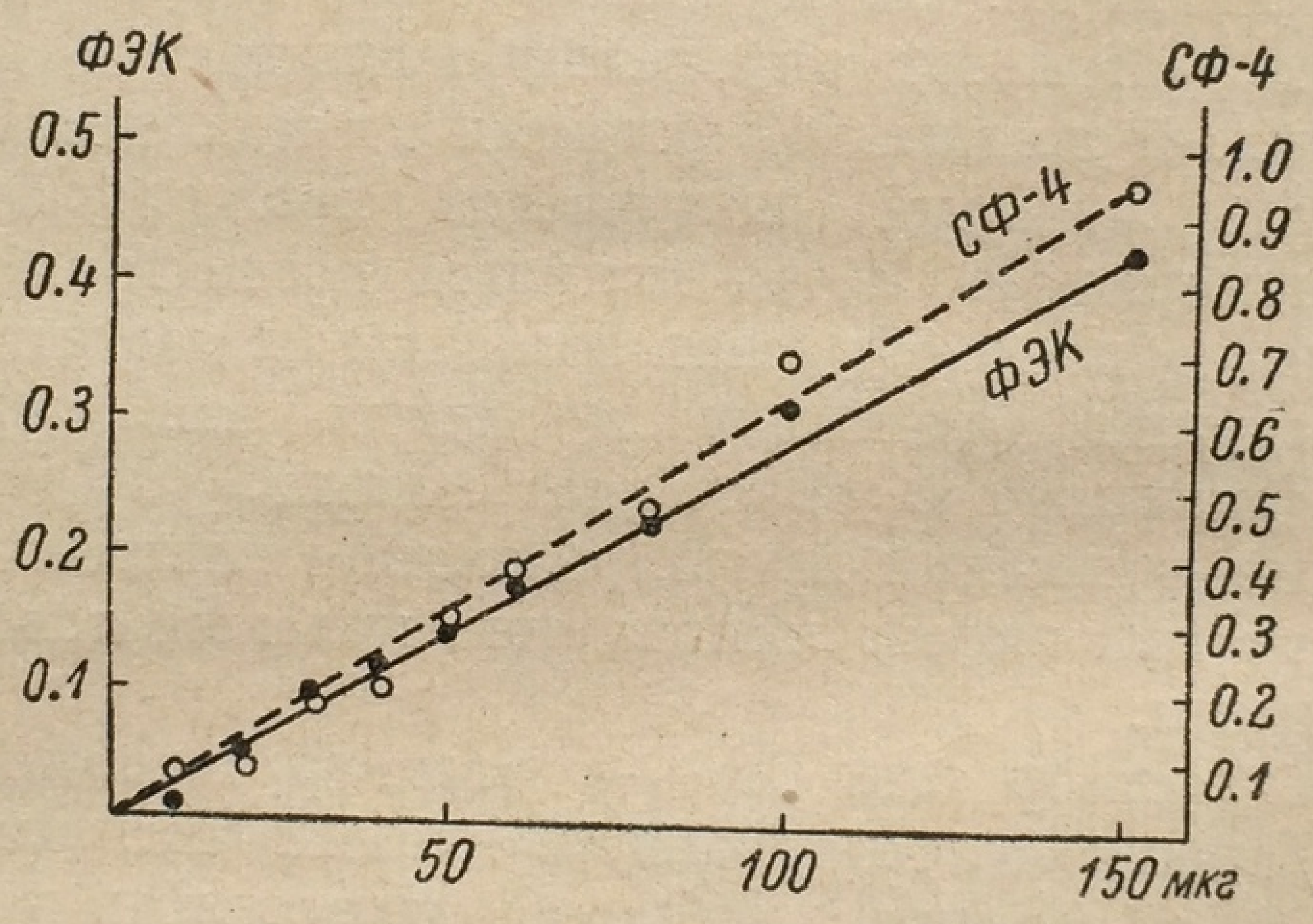


Рис. 1. Калибровочные кривые.

По оси абсцисс — количество глицина; *по оси ординат* — оптическая плотность (экстинкция прибора).

руется с субстратом в течение определенного интервала времени при температуре 38° и непрерывном перемешивании.[1]

0.5 мл кишечного инкубата, перфузата или гомогената после инкубации приливаются к 1.5 мл 10%-го раствора ТХУ для осаждения белков. Полное осаждение белков достигается периодическим перемешиванием проб в течение 10—15 мин., после чего производится фильтрование или центрифугирование.

Для осаждения белков можно также использовать смесь 1.0 мл 0.45%-го раствора $ZnSO_4$ и 0.5 мл 0.1 н. раствора NaOH.

[1] Иногда, в случаях высокой ферментативной активности, ферментактивные растворы требуют предварительного разведения.

0.5 мл фильтрата или центрифугата добавляются к 0.5 мл 0.5%-го раствора хлорамина Т, и пробы, закрытые стеклянными колпачками во избежание испарения, ставятся в кипящую водяную баню на 5 мин. После охлаждения в каждую пробирку приливается по 0.5 мл 5%-го раствора хромотроповой кислоты или ее динатриевой соли и 5 мл концентрированной серной кислоты. Пробы тщательно перемешиваются. В зависимости от концентрации глицина образуется фиолетово-розовое окрашивание различной интенсивности.

Концентрация глицина,[2] по которой можно судить об активности фермента, определяется на ФЭК-Н-57 с фильтром № 6 или на СФ-4 при длине волны 565 ммк через 10—15 мин. после развития окраски в 5- или 10-миллиметровых кюветах.

Колориметрия производится против контрольного раствора, который готовится из тех же реактивов и в том же количестве, что и опытный, только к 1.5 мл раствора, осаждающего белки, вместо 0.5 мл исследуемой жидкости прибавляется 0.5 мл раствора Рингера или дистиллированной воды.

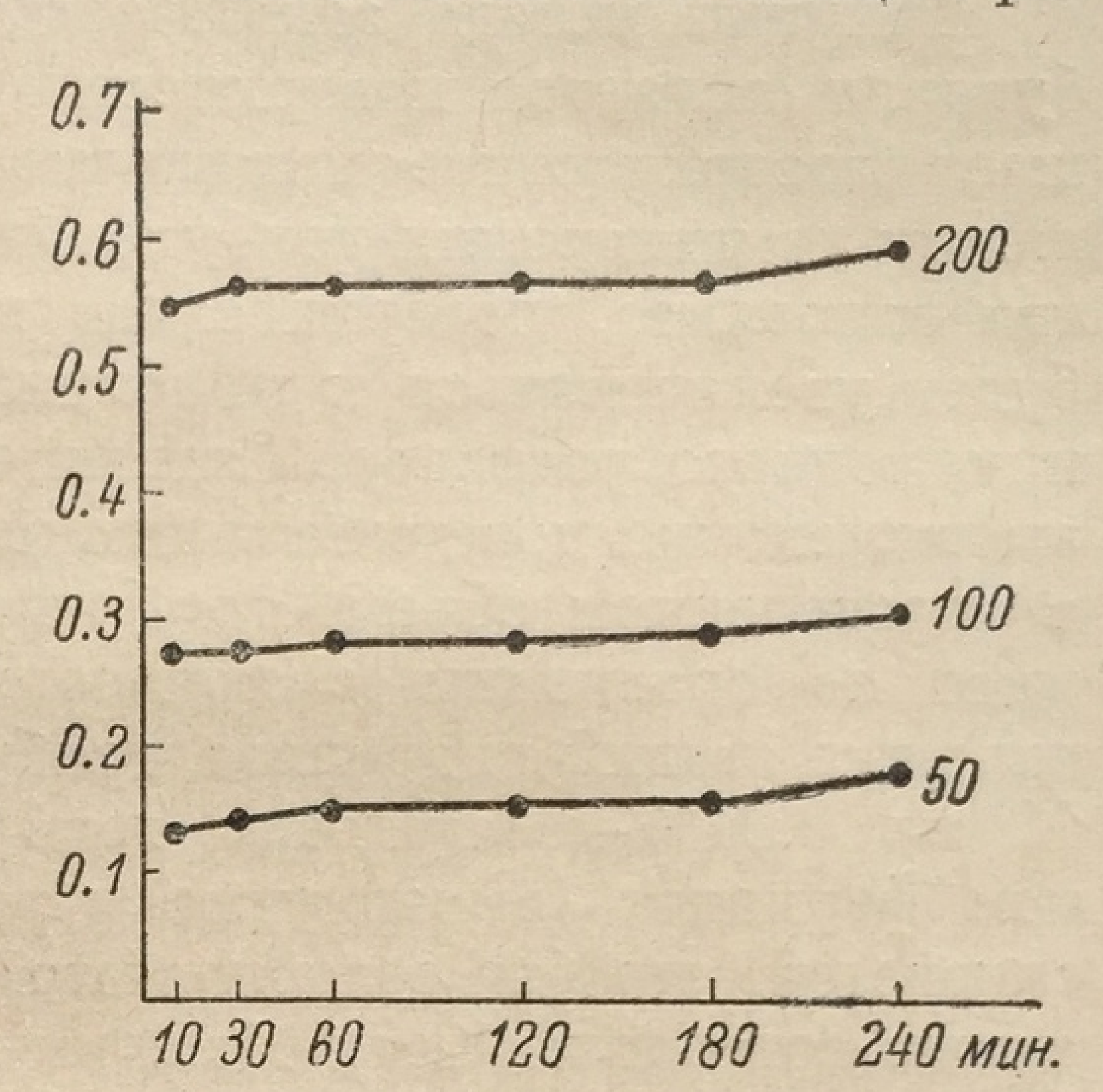


Рис. 2. Интенсивность окраски при определении разных концентраций глицина (мкг) в зависимости от времени.

По оси абсцисс — время; *по оси ординат* — то же, что и на рис. 1.

Количество глицина рассчитывается по калибровочной кривой. На рис. 1 приводятся калибровочные кривые, построенные при определении возрастающих концентраций глицина от 10 до 150 мкг с использованием белкового осадителя из смеси 0.45%-го раствора $ZnSO_4$ и 0.1 н. NaOH. Из рис. 1 видно, что интенсивность окраски прямо пропорциональна предшествующей концентрации глицина. Кроме того, определялась устойчивость окраски, образующейся при определении различных концентраций глицина — 50, 100 и 200 мкг в разные интервалы времени в течение 4 часов. Из рис. 2 видно, что образующаяся окраска практически не меняется в этот период времени.

Метод является простым, точным и достаточно чувствительным, не требующим дефицитных реактивов. Может быть рекомендован для определения пептидазной активности при изучении тех или иных функций пищеварительного аппарата.

---

[2] Расчет см. в описании метода определения протеолитической активности.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ НАЧАЛЬНЫХ СТАДИЙ ГИДРОЛИЗА ТРИБУТИРИНА

А. М. Уголев, Я. Я. Нуркс

Для оценки начальных стадий гидролиза трибутирина был использован и модифицирован сталагмометрический метод.

Принцип метода заключается в следующем. Поскольку трибутирин является поверхностно активным веществом, он уменьшает поверхностное натяжение водных растворов. При уменьшении концентрации трибутирина в среде, например в результате его гидролиза, поверхностное натяжение раствора трибутирина будет увеличиваться и приближаться к поверхностному натяжению водного раствора. Сталагмометрический метод регистрирует эти изменения поверхностного натяжения путем подсчета капель в определенном объеме трибутирина после инкубации с ферментами по сравнению с контролем. Процедура определения начальных стадий гидролиза трибутирина сводится к следующему. 11 мл 0.04%-й эмульсии трибутирина инкубируют с источником фермента (вывернутые отрезки тонкой кишки, гомогенаты слизистой, пробы содержимого). По окончании инкубации реакцию останавливают добавлением 1 мл 2 н. раствора HCl. Ранее было показано, что добавление HCl в этой концентрации не влияет на поверхностное натяжение раствора трибутирина. Подсчитывается число капель в 10 мл трех растворов: эмульсии трибутирина после инкубации с источником фермента, исходного раствора трибутирина и раствора Рингера (последние два служат контролем). При подсчете капель классический сталагмометрический метод был изменен, и визуальный подсчет капель был заменен автоматическим. Устройство автоматического счетчика капель: конденсатор, который заряжается током (напряжение 100 в) от трансформатора, два серебряных электрода и счетчик. Раствор трибутирина при регулируемом вытекании в виде капель из моровской пипетки объемом 10 мл соединяет концы электродов каплями. При этом происходит разряжение пластинок конденсатора, которое переносится на счетчик.

О степени гидролиза трибутирина, выражаемой в процентах, судят по разнице между числом капель в 10 мл исходного раствора трибутирина и числом капель в том же объеме раствора трибутирина после инкубации. Условно принимаем разницу между числом капель исходного раствора трибутирина и числом капель в том же объеме Рингера за 100%. Отсюда процент гидролиза трибутирина рассчитывается по следующей формуле:

$$\text{Процент гидролизованного трибутирина} = \frac{\text{Число капель в исходном р-ре трибутирина} - \text{число капель в р-ре трибутирина после инкубации}}{\text{Число капель в исходном р-ре трибутирина} - \text{число капель в р-ре Рингера}} \times 100.$$

П р и м е р   р а с ч е т а

Число капель в 10 мл раствора Рингера — 260
Число капель в 10 мл исходного раствора трибутирина — 350
Число капель в 10 мл раствора трибутирина после инкубации с источником фермента — 305

Разница между числом капель исходного раствора трибутирина и числом капель раствора Рингера:

$$350-260=90 \text{ (капель).}$$

Высчитаем процент гидролизованного трибутирина:

$$\frac{45}{90} \times 100 = 50\%.$$

Активность начальных стадий гидролиза трибутирина выражается в проценте гидролизованного трибутирина в 1 мин.

В некоторых случаях характеристикой начальных стадий гидролиза трибутирина могут служить абсолютные количества гидролизованного трибутирина, которые рассчитываются исходя из полученных данных о проценте гидролизованного трибутирина.

П р и м е р   р а с ч е т а

На инкубацию взято 10 мл 0.04%-го раствора трибутирина (т. е. 4000 мкг трибутирина), гидролизовано 30% трибутирина, следовательно:

$$\text{Количество гидролизованного трибутирина} = \frac{4000 \times 30}{100} = 1200 \text{ мкг.}$$

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНЫХ СТАДИЙ ГИДРОЛИЗА ТРИГЛИЦЕРИДОВ

А. М. Уголев, М. Ю. Черняховская

Для характеристики заключительных стадий гидролиза трибутирина используется метод количественного определения свободного глицерина, являющегося обязательным продуктом полного гидролиза триглицеридов. Выбор этого метода представляется нам более оправданным, чем метод определения свободных жирных кислот, который широко используется в зарубежных и отечественных исследованиях. Освобождение жирных кислот может характеризовать не только заключительные, но и начальные этапы гидролиза любого триглицерида, тогда как обнаружение в среде свободного глицерина свидетельствует исключительно о заключительных стадиях гидролиза.

Для характеристики заключительных стадий гидролиза нами был модифицирован метод количественного определения свободного глицерина. Из существующих методов определения глицерина наибольшее применение для изучения переваривания и всасывания глицеридов нашли методы, основанные на реакции

свободного глицерина с иодной кислотой (Покровский, 1965). В основе этой реакции лежит окисление свободных смежных гидроксильных групп в глицерине или в α-моноглицериде иодной кислотой. При этом каждая отщепляющаяся концевая группа CH_2OH образует молекулу формальдегида, а каждая отщепляющаяся группа CHOH — молекулу муравьиной кислоты. Поскольку реакция идет количественно по уравнению

$$\begin{array}{l} CH_2OH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CH_2OH \end{array} + 2HJO_4 \longrightarrow HCOOH + 2HCOH + 2HJO_3 + H_2O,$$

то в зависимости от принятой модификации о количестве окисленного глицерина можно судить или по количеству образовавшегося формальдегида (колориметрические методы), или по определению иода, выделенного из избытка HJO_3 в нейтральной среде, или из избытка HJO_4 и образовавшейся HJO_3 в кислой среде (титрометрические методы).

Поскольку колориметрические методы определения глицерина являются на порядок более чувствительными, чем титрометрические, то в связи с особенностями условий наших опытов (в частности, малые количества субстрата, небольшие участки кишки и т. д.) представляется целесообразным адаптировать для характеристики заключительных стадий гидролиза трибутирина колориметрические методы, позволяющие надежно определять свободный глицерин в диапазоне 5—50 мкг.

В этих целях может быть избран метод, предложенный Ламбертом и Нейшем (Lambert a. Neish, 1950), основанный на связывании образующегося в ходе реакции формальдегида хромотроповой кислотой (1,8-диоксинафталин-3,6-дисульфоновая кислота). Эта кислота, как показал Играйв (Eegriwe, 1937), является специфическим реактивом на формальдегид в присутствии других альдегидов.

В основу процедуры определения глицерина берется пропись Ханахана и Олли (Hanahan a. Olley, 1958), в которую были внесены следующие модификации:

1) вместо рекомендуемого авторами дефицитного раствора периодата натрия может использоваться раствор иодной кислоты;

2) вместо бисульфита натрия, растворы которого очень нестабильны, можно пользоваться в качестве восстановителя раствором метабисульфита натрия;

3) показана возможность использования для связывания формальдегида как самой хромотроповой кислоты, так и ее динатриевой соли.

Приготовление проб инкубата для определения освободившегося глицерина. Так

как в среде липолиза после инкубации субстрата и источника фермента (кусочки кишки, гомогенаты ткани, кишечное содержимое и т. д.) могут присутствовать наряду со свободным глицерином и другие продукты гидролиза триглицеридов, в частности 1- или 3-моноглицериды, которые также могут окисляться HJO_4 и мешать определению глицерина, то необходимой процедурой является этап обезжиривания инкубата. Для этого к 3.5 мл инкубата прибавляют 3 мл хлороформа и после перемешивания центрифугируют. Полученную после центрифугирования водную фазу используют для определения освободившегося в ходе липолиза глицерина. Однако необходимо отметить, что продукты гидролиза трибутирина растворимы в воде, и поэтому нет необходимости при работе с трибутирином проводить обезжиривание инкубата.

Реактивы.

1. 10 н. раствор H_2SO_4.
2. 0.1 М раствор $HJO_4 \cdot 2H_2O$.
3. 10%-й водный раствор $Na_2S_2O_5$.
4. Динатриевая соль хромотроповой кислоты: 1 г кислоты растворяют в 100 мл воды, фильтруют и смешивают с 450 мл 24 н. раствора серной кислоты.

Ход определения.

К 2 мл инкубата добавляют 0.1 мл 10 н. H_2SO_4, перемешивают и добавляют 0.5 мл 0.1 М раствора HJO_4. Точно через 5 мин. после добавления иодной кислоты в каждую пробу приливают 0.5 мл 10%-го раствора метабисульфита натрия, перемешивают, после чего в пробах появляется слегка желтоватое окрашивание. 1 мл пробы переносят в другую пробирку и добавляют 5 мл динатриевой соли хромотроповой кислоты. Пробы перемешивают и ставят на 30 мин. в кипящую водяную баню. После охлаждения до комнатной температуры проводят колориметрию проб на ФЭК-Н-57 с зеленым светофильтром. При окислении глицерина и развитии окраски следует избегать прямого попадания солнечного света, и все процедуры желательно проводить в затемненной комнате.

Построение калибровочных кривых. В качестве стандартов используют растворы глицерина, приготовленные на растворе Рингера (pH 7.4).

Исходный стандартный раствор готовят из динамитного глицерина из расчета 1000 мкг глицерина в 1 мл раствора. Из этого исходного раствора для каждой серии опытов готовят ряд стандартов в диапазоне от 5 до 50 мкг глицерина. Типичный пример калибровочной кривой приведен на рис. 3.

Поскольку в литературе имеются указания на то, что фосфатный буфер мешает определению глицерина (Kern a. oth., 1961), в связи с чем рекомендуется заменять его трис-буфером, могут быть проведены проверочные исследования и построены калиб-

ровочные кривые для стандартных растворов глицерина, приготовленных на воде, растворе Рингера и фосфатном буфере. Было показано, что в условиях этих экспериментов использование раствора Рингера и фосфатного буфера не влияет на количественное определение глицерина.

В связи с хорошей воспроизводимостью калибровочной кривой в дальнейшем для каждой серии проб готовят ряд стандартов глицерина в диапазоне от 5 до 50 мкг и рассчитывают K — среднее данного ряда стандартов. Значения K вычисляют по формуле

$$K = \frac{\text{мкг глицерина}}{\text{Экстинкция пробы}}.$$

Отсюда количество глицерина в каждой пробе определяют по формуле

$$\text{мкг глицерина} = K_{\text{ср}} \times \text{экстинкция пробы}.$$

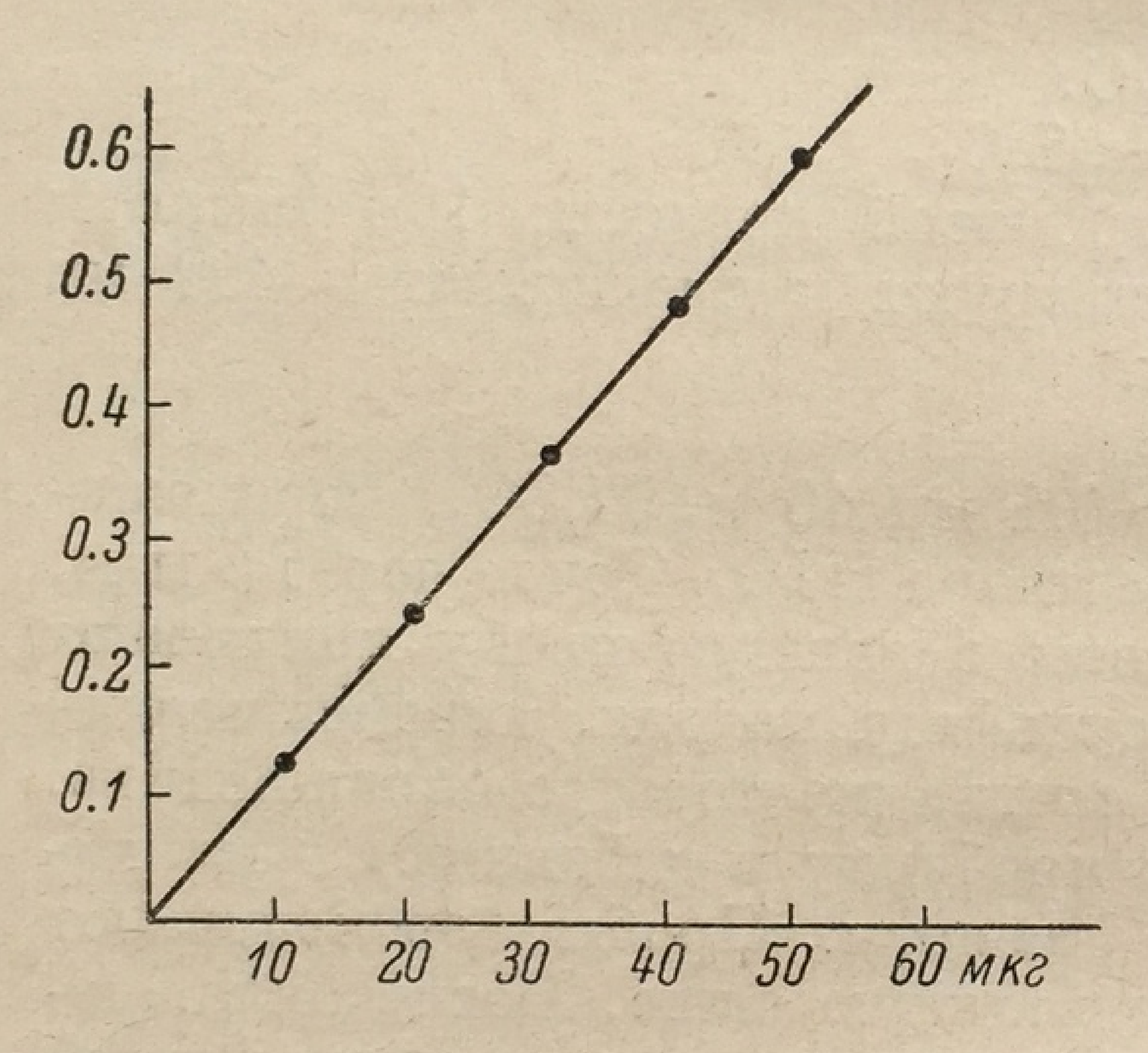


Рис. 3. Калибровочная кривая для стандартных растворов глицерина.

По оси абсцисс — количество глицерина; по оси ординат — то же, что на рис. 1.

Приводимые ниже результаты статистического анализа ряда значений $K_{\text{ср}}$, полученных на стандартных растворах глицерина, приготовленных в различное время, свидетельствуют о хорошей воспроизводимости метода:

$$M \pm m = 0.0854 \pm 0.0008, \; n = 27,$$

$$M = K_{\text{ср}}.$$

Активность ферментов, осуществляющих заключительные стадии гидролиза трибутирина, выражается в микрограммах глицерина, освобождающегося в 1 мин.

Специфика условий и среды липолиза при изучении липолитической активности обусловила необходимость исследования возможного влияния этих факторов на результаты количественного определения глицерина.

Влияние детергентов. Получение стойкой и стабильной эмульсии субстрата в ряде случаев (при использовании концентрации трибутирина выше чем 0.04%, применяемой обычно) требует введения детергентов. В качестве детергента используется дезоксихолиевый натрий; субстрат как в присутствии детергента, так и без него постоянно перемешивается на магнитной мешалке. Помутнение проб при остановке реакции 2 н. раствором HCl, возникающее при использовании дезоксихолата натрия,

устраняется при последующей фильтрации проб, причем эта процедура не приводит к потере глицерина.

Кроме 2 н. раствора HCl, для остановки реакции может применяться 10%-й водный раствор ТХУ (трихлоруксусная кислота). Появляющаяся муть в растворе также легко устраняется фильтрованием.

Применение ТХУ особенно целесообразно при работе с гомогенатами в качестве источника фермента.

Специфичность метода. Реакция периодатного окисления вообще не является специфичной для глицерина. Другие вещества, имеющие в составе молекулы первичные спиртовые группы, также окисляются иодной кислотой с образованием формальдегида. К числу таких веществ относятся, например, сахароза, некоторые аминокислоты, α-аминоспирты, α-гликоли. Однако в отличие от глицерина эти соединения требуют для своего полного окисления или увеличения длительности реакции с иодной кислотой, или повышения температуры реакции. Так, еще Ламберт и Нейш, которые разработали этот метод для определения глицерина, освобождающегося в ходе реакции брожения, показали, что избыточные количества глюкозы в среде не мешают определению глицерина, ибо для полного окисления глюкозы иодной кислотой требуется примерно 4 часа, а для полного окисления глицерина — 5 мин. Другие реагирующие с HJO_4 и мешающие определению глицерина вещества также не окисляются в условиях полного окисления глицерина (в течение 5 мин. при комнатной температуре).

Проведение большого числа проверочных и методических опытов показало хорошую воспроизводимость метода и его пригодность для изучения заключительных стадий гидролиза трибутирина.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АМИЛОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

А. М. Уголев

В основу приведенного метода определения активности амилазы положен метод Смита и Роя (Smyth a. Roe, 1949), который отличается большой точностью и широко применяется в энзимологии. Принцип этого метода заключается в колориметрическом определении убыли крахмала при ферментативном гидролизе по изменению окраски иод-крахмальных компонентов.

В качестве субстрата используется раствор растворимого крахмала определенной концентрации. Амилолитическая активность выражается в условных единицах (%) или миллиграммах расщепленного субстрата за 1 мин. или за время инкубации.

Реактивы.

1. 0.1%-й раствор растворимого крахмала (концентрация субстрата может быть иной в зависимости от условий) на растворе определенного буфера (фосфатного, цитратного, раствора Рингера и т. д.) с pH 7.0. Для приготовления этого субстрата в мерную колбу к навеске растворимого крахмала прибавляется примерно половина необходимого для нужного разведения буферного раствора, который доводится до кипения и далее добавляется до метки. Субстрат может быть использован в течение 1—2 суток, не более.

2. 0.3%-й раствор металлического иода J_2 в 3%-м растворе иодистого калия KJ. Перед опытом разводится водой в отношении 1 : 3.

3. 1 н. раствор соляной кислоты HCl для остановки ферментативной реакции.

Ход определения. Исследуемый ферментативно-активный раствор (панкреатический сок, содержимое тонкой кишки, моча, кровь, водный раствор кала, гомогенаты тканей и т. д.) инкубируется с субстратом в течение определенного времени (от 10 до 60 мин., не более) при выбранной температуре (наиболее физиологична организму температура 37—38°) и непрерывном перемешивании для лучшего контакта фермента с субстратом. При высоких концентрациях фермента исследуемый ферментативно активный раствор рекомендуется предварительно развести соответствующим образом.

Перед опытом в ряд пробирок наливается по 0.5 мл 1 н. раствора соляной кислоты, 0.5 мл раствора J_2 в KJ, разведенного в отношении 1 : 3, и 5 мл дистиллированной воды. После инкубации субстрата с источником фермента (можно использовать следующее соотношение: 3 мл 0.1%-го раствора растворимого крахмала и 1 мл ферментсодержащего раствора) в эти пробирки приливается по 1 мл указанной инкубационной смеси. Иодный реактив с крахмалом образует иод-крахмальные комплексы и дает синее окрашивание. В контрольные пробы вместо инкубационной смеси добавляется по 1 мл исходного крахмально-солевого раствора.

Следует отметить, что исходный раствор крахмала должен быть разведен так же, как и крахмал, используемый в эксперименте для определения ферментативной активности исследуемого материала при инкубации субстрата с источником фермента. А именно: если производится инкубация 3 мл 0.1%-го раствора крахмала и 1 мл источника фермента, то для расчета убыли крахмала исходный раствор необходимо развести в таком же соотношении, т. е. к 3 мл 0.1%-го раствора крахмала добавить 1 мл буферного раствора, на котором приготовлен ферментативно-активный раствор и субстрат. Указанный раствор крахмала и будет контрольным.

Колориметрия производится в фотоэлектроколориметре при красном светофильтре в специально подобранных кюветах (размер кювет зависит от интенсивности окраски) против раствора, содержащего те же реактивы и в том же количестве, которые использовались в опыте, только к 0.5 мл соляной кислоты, 0.5 мл раствора иода и 5 мл воды вместо инкубационного раствора, содержащего крахмал, следует добавить 1 мл соответствующего буфера или дистиллированной воды. Колориметрию можно проводить также против воды. Периодически составляемые калибровочные кривые обнаруживают хорошую линейную зависимость в избранной зоне между показателями прибора и концентрацией полисахарида. Тем не менее экстинкцию контрольного раствора крахмала необходимо определять в ходе каждого эксперимента и строить расчет для большей точности с учетом именно этого показателя, а не на основании составленных ранее калибровочных кривых.

Как упоминалось выше, амилолитическая активность выражается в условных единицах (%) или миллиграммах расщепленного крахмала за 1 мин. или за время инкубации. Для этого необходимо знать показатели по колориметру инкубационной смеси, содержащей определенное количество крахмала после инкубации этого субстрата с ферментативно-активным раствором, и исходного раствора крахмала, разведенного так же, как и инкубационная смесь. Тогда на основании этих показателей может быть произведен расчет количества крахмала, оставшегося после инкубации, и затем убыли его в результате ферментативного гидролиза.

Составляется следующая пропорция:

Экстинкция исходного раствора субстрата (контроль) — 100%
Экстинкция субстракта после инкубации его с источником фермента (опыт) — X%

Отсюда

$$\text{Количество крахмала, оставшегося после инкубации с источником фермента } (X) = \frac{\text{Экстинкция опыта} \cdot 100}{\text{Экстинкция контроля}},$$

где за 100% принимается количество крахмала (исходное), которое содержалось в пробе перед инкубацией его с ферментсодержащим раствором. Однако ферментативная активность определяется не по количеству оставшегося крахмала, а по количеству гидролизованного субстрата. Следовательно, активность амилазы в данных условиях будет выражена следующей величиной : $100\% - X\% = Y\%$.

Для окончательного расчета следует учитывать время инкубации и разведение раствора, содержащего фермент. Результаты целесообразнее выражать в условных единицах.

Расчет убыли крахмала можно проводить непосредственно в показаниях прибора (табл. 1).

Таблица 1

Пример расчета амилолитической активности, выраженной в условных единицах расщепленного крахмала за 1 мин. инкубации

Время инкубации (мин.)	Разведение	Показания ФЭК			Количество гидролизованного крахмала		
		контроль	опыт	убыль	за время инкубации	с учетом разведения	за 1 мин.
20	50	0.64	0.42	0.22	34.4	1720	86

Однако использование относительных единиц в ряде случаев страдает существенными недостатками.

Амилолитическая активность может быть выражена также в миллиграммах расщепленного субстрата за единицу времени. Последний расчет более удобен и универсален. В этом случае следует учитывать концентрацию тестируемого субстрата и его количество, употребляемое в эксперименте. Например, при исследовании активности амилазы используется 0.1%-й раствор крахмала, т. е. раствор, содержащий 100 мг крахмала в 100 мл раствора. Следовательно, 1 мл данного раствора содержит 1 мг крахмала. Если в опыте было взято 3 мл субстрата, исходное количество крахмала в инкубационной смеси составит 3 мг. Расчет убыли крахмала (в мг) проводится по принципу, изложенному выше:

Экстинкция исходного раствора субстрата (контроль) — 3 мг
Экстинкция субстрата после инкубации с источником фермента (опыт) — X мг

Отсюда

$$\text{Количество крахмала (в мг), оставшегося после инкубации его с источником фермента } (X) = \frac{\text{Экстинкция опыта} \cdot 3}{\text{Экстинкция контроля}}.$$

Следовательно, убыль крахмала в миллиграммах составит: 3 мг$-X$ мг$=Y$ мг. Таким образом, за время инкубации было гидролизовано Y мг крахмала. Также, как при расчете амилолитической активности, выраженной в условных единицах, расчет активности в миллиграммах можно проводить несколько проще, определяя разницу между исходным субстратом (контролем) и субстратом после инкубации (опытом) в показаниях прибора (табл. 2).

Амилаза — чрезвычайно чувствительный фермент, что является ее достоинством, но одновременно и недостатком, так как фермент имеет сравнительно узкий диапазон действия. В связи с этим часто приходится предварительно ориентировочно подбирать

Таблица 2

Пример расчета амилолитической активности, выраженной в миллиграммах расщепленного крахмала за 1 мин. инкубации

Время инкубации (мин.)	Разведение	Показания ФЭК			Количество гидролизованного крахмала		
		контроль	опыт	убыль	за время инкубации	с учетом разведения	за 1 мин.
20	50	0.64	0.42	0.22	1.03	51.5	2.58

степень разведения фермента методом Вольгемута и проводить несколько экспериментов с различной продолжительностью инкубации или несколько инкубаций с различной степенью разведения.

Метод Вольгемута. Штатив заполняется рядом пробирок, в которые прибавляется по 1 мл буферной смеси, а затем по 1 мл ферментного раствора. Обычным способом производится последовательное разведение вдвое. После этого в каждую пробирку прибавляется по 1 мл раствора крахмала, используемого в исследовании (в частности, 0.1%-й раствор растворимого крахмала). После инкубации, проводимой при соответствующей температуре (температурные условия должны быть аналогичны тем, при которых будет проводиться дальнейшее исследование) и непрерывном перемешивании для лучшего контакта фермента с субстратом, реакция останавливается 1 мл 0.1 н. соляной кислоты. Далее в каждую пробирку прибавляется по 1 капле иодного реактива. Активность амилазы рассчитывается по разведению фермента в последней пробирке, в которой крахмал частично переварен.

Следует отметить, что степень гидролитического расщепления крахмала определяется по сравнению с контролем, в который так же, как и в опыт, приливается 1 мл буфера, 1 мл 0.1%-го раствора растворимого крахмала и, если реакция останавливается соляной кислотой, то 1 мл последней. Иод прибавляется к контрольным пробам одновременно с опытными. Результат выражается в условных единицах Вольгемута.

Пример расчета

Если последняя пробирка с частично гидролизованным субстратом стоит пятой, то активность амилазы по Вольгемуту составляет 32 ед.

Необходимо еще раз упомянуть, что метод Вольгемута может быть использован исключительно для определения разведения ферментативно-активного раствора, так как он не обладает до-

статочной точностью и дает весьма приблизительный ответ. После того как будет подобрано соответствующее разведение, активность амилазы должна определяться более точными и современными методами, в частности модифицированным нами методом Смита и Роя.

В заключение следует еще раз отметить, что последний метод достаточно точен, надежен и вместе с тем сравнительно прост.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ИНВЕРТАЗЫ И ДРУГИХ ДИСАХАРИДАЗ

А. М. Уголев, Н. Н. Иезуитова

Для выявления активности инвертазы в качестве субстрата используется раствор сахарозы, приготовленный на соответствующем буфере с pH 7.0. Прирост редуцирующих сахаров, образующихся в результате ферментативного гидролиза сахарозы, можно с достаточной точностью определить колориметрическим мышьяково-молибденовым методом Нельсона (Nelson, 1944). Метод приведен также в известной сводке С. Д. Балаховского и И. С. Балаховского (1953).

Принцип его основан на окислении редуцирующих сахаров медным реактивом с последующим восстановлением мышьяково-молибденового реактива в присутствии образовавшейся закиси меди. Указанный метод адаптирован нами к определению ферментативной активности, для чего соответственно выбраны наиболее удобные количественные соотношения реактивов, и позволяет также определять количество редуцирующих сахаров, в том числе глюкозу, фруктозу, галактозу.

Реактивы.

1. Изотонический реактив

$$Na_2SO_4 \cdot 10H_2O — 9.6 \text{ г}$$

$$CuSO_4 \cdot 5H_2O — 2.1 \text{ г}$$

доводят дистиллированной водой до 350 мл.

2. Медный реактив для окисления глюкозы, состоящий из двух растворов, А и Б. Раствор А : 13 г химически чистого кристаллического медного купороса доводят дистиллированной водой до 1 л. Раствор Б : 50 г $NaHCO_3$ растворяют при перемешивании в 700 мл дистиллированной воды. После растворения всего бикарбоната прибавляют 40 г Na_2CO_3 при перемешивании. Затем добавляют 36.8 г щавелевокислого калия, предварительно растворенного в 100 мл воды и 24 г сегнетовой соли, растворенной также в 100 мл воды. Смесь выливают в мерную колбу и доводят дистиллированной водой до 1 л.

Рабочий раствор готовится перед употреблением смешением равных частей растворов А и Б.

3. Мышьяково-молибденовый раствор. 25 г молибденовокислого аммония растворяют в 450 мл дистиллированной воды. Затем добавляют 21 мл концентрированной серной кислоты и 3 г 2-замещенного мышьяковокислого натрия ($Na_2HAsO_4 \cdot 7H_2O$), предварительно растворенного в 25 мл дистиллированной воды (при отсутствии 2-замещенного мышьяковокислого натрия может быть использован 3-замещенный). Раствор оставляют при 37° на двое суток. Перед употреблением его разводят двумя объемами воды.

4. 10%-й раствор вольфрамата натрия (Na_2WO_4) для осаждения белков.

5. 0.1%-й стандартный раствор глюкозы.

Ход определения. 0.5—1 мл (и более, в зависимости от условий) ферментативно-активного раствора, гомогената тканей, кусочки ткани определенного веса (в случае кишечной слизистой — от 50 до 500 мг) инкубируются с 3 мл 1—2%-го раствора сахарозы (соотношение между раствором, содержащим фермент, и субстратом может варьировать) в течение 10—60 мин. при температуре, наиболее физиологичной для организма (37—38°) и непрерывном перемешивании для лучшего контакта субстрата с ферментом. Затем к 3.7 мл изотонического раствора добавляется 0.1, 0.2 или 0.5 мл (в зависимости от условий эксперимента) инкубационной смеси. Основная часть несахарных редуцирующих веществ осаждается 0.2 мл 10%-го раствора вольфрамата натрия в течение 5—10 мин. Вслед за перемешиванием и фильтрованием 1 мл безбелкового фильтрата прибавляется к 1 мл меднощелочного реактива (смесь реактивов А и Б) для окисления редуцирующих веществ. После 10-минутного пребывания в кипящей водяной бане и охлаждения в пробирки приливается по 3 мл мышьяково-молибденового реактива, предварительно разведенного дистиллированной водой в отношении 1 : 2 (т. е. в три раза), который окисляет глюкозу и дает с ней сине-зеленое окрашивание. Колориметрия производится через 10—15 мин. после развития окраски на фотоэлектроколориметре при красном светофильтре в специально подобранных кюветах (3- или 5-миллиметровых) против перечисленных выше реактивов, к которым вместо исследуемой инкубационной смеси добавляется такое же количество воды или буферного раствора.

Прирост редуцирующих сахаров определяется сравнением показаний прибора при колориметрии опытного и стандартного растворов.

В последнем случае к изотоническому раствору добавляется такое же количество стандартного раствора глюкозы, как и инкубационной смеси. Дальнейший ход определения такой же, как и в опыте.

1/2 13 Заказ № 1392

Расчет производится на основе экстинкции стандартного раствора глюкозы по формуле, полученной из пропорции:

Экстинкция стандартного раствора глюкозы — 100 мг%
Экстинкция исследуемой инкубационной смеси — X мг%

Отсюда

$$\text{Количество редуцирующих сахаров (в мг\%) в исследуемой инкубационной смеси } (X) = \frac{\text{Экстинкция исследуемой инкубационной смеси} \times 100}{\text{Экстинкция стандартного раствора глюкозы}},$$

где 100 — концентрация стандартного раствора глюкозы в миллиграммах в 100 мл раствора (0.1%-й раствор содержит 100 мг глюкозы в 100 мл раствора, следовательно 100 мг%).

При указанном расчете результат будет выражен в миллиграммпроцентах, т. е. в количестве редуцирующих сахаров в 100 мл раствора. Отсюда можно рассчитать прирост редуцирующих сахаров в миллиграммах в определенном объеме инкубационной смеси. Например, если в 100 мл раствора содержится 60 мг редуцирующих сахаров (60 мг%), то в 3 мл (т. е. в инкубационной смеси) — 1.8 мг, в 4 мл — 2.4 мг и т. д. Прирост редуцирующих сахаров может быть выражен также в пересчете на 1 мин. инкубации, за все время инкубации, в расчете на определенный вес ткани и т. д.

В аналогичных условиях может быть определена активность инвертазы, группы мальтаз, изомальтазы и лактазы методом с использованием глюкозооксидазы, описанным В. К. Городецким (1964) и приведенным ниже. Метод предназначен для специфического количественного определения глюкозы после инкубации ферментсодержащего материала с соответствующим субстратом в безбелковом центрифугате или фильтрате. Указанный метод позволяет определять истинное содержание глюкозы в присутствии различных сахаров и других редуцирующих веществ неуглеводной природы.

Принцип ферментативного метода основан на каталитическом действии глюкозооксидазы. Фермент глюкозооксидаза катализирует окисление глюкозы кислородом воздуха до глюконовой кислоты, при этом в ходе реакции образуется перекись водорода в эквимолярных количествах. Перекись водорода разлагается пероксидазой, а выделившийся атомарный кислород окисляет добавленный к реактивной смеси хромогенный кислородный акцептор. В качестве окисляющего красителя применяют о-толидин. Количественное определение глюкозы заключается в измерении степени окраски красителя и сравнении оптической плотности испытуемого раствора со стандартными растворами глюкозы.

Ферментативная реакция протекает в соответствии с законом Беера, прямая зависимость между содержанием глюкозы и интенсивностью окраски сохраняется в пределах от 20 до 400 мг%.

Реактивы.

1. 0.9%-й раствор хлористого натрия NaCl.

2. 5%-й раствор сернокислого цинка $ZnSo_4 \cdot 7H_2O$.

3. 0.3 н. раствор едкого натра NaOH.

Смесь двух последних растворов используется в качестве осадителей белков.

4. 1%-й раствор о-толидина в абсолютном спирте.

5. 0.25 н. ацетатный буфер pH 4.8 (4 части 0.25 н. раствора уксусной кислоты CH_3COOH и 6 частей 0.25 н. уксуснокислого натрия CH_3COONa). При данном pH отмечается наибольшая стабилизация окраски при окислении о-толидина.

6. 20 мг%-й раствор пероксидазы на ацетатном буфере (5). Вместо импортной кристаллической пероксидазы из хрена можно использовать пероксидазу, полученную по методике, описанной в руководстве Белозерского и Проскурякова.

7. Препарат фермента глюкозооксидазы, выпускаемый Заводом бакпрепаратов, г. Львов.

8. Рабочий реактив для определения глюкозы энзиматическим методом готовится следующим образом: к 80 мл ацетатного буфера (5) добавляют 1—2 мг препарата глюкозооксидазы (7) и 5 мл 20 мг%-го раствора пероксидазы (6) или 1 мг сухой кристаллической пероксидазы. Смесь перемешивают, приливают 1 мл раствора о-толидина (4) и доводят объем до 100 мл ацетатным буфером. Реактив готовится за 1—2 часа до употребления и хранится на холоду в темной посуде в течение нескольких суток.

9. Стандартный раствор глюкозы (0.1%-й раствор, т. е. 100 мг в 100 мл раствора).

Ход определения. Метод, используемый В. К. Городецким, был адаптирован нами для определения ряда ферментативных активностей, в связи с чем в него внесены некоторые количественные изменения. Кроме того, процедура центрифугирования заменена фильтрованием.

В пробирки приливается 1 мл 0.9%-го раствора хлористого натрия NaCl, 0.5 мл сернокислого цинка $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ и столько же едкого натра NaOH. К этой смеси добавляется по 0.5 мл инкубационного раствора (полученного после инкубации соответствующего субстрата с ферментсодержащим материалом) или по 0.5 мл стандартного раствора глюкозы. После перемешивания и фильтрования на определение берется 0.5 мл фильтрата, к которому прибавляется 1.5 мл реактива для определения глюкозы (8). Для контроля, используемого при колориметрии, берется 0.5 мл дистиллированной воды или соответствующего буфера, к которым приливается по 1.5 мл реактива (8).

В ходе реакции интенсивность окраски постепенно возрастает и достигает своего максимума через 15—20 мин, после прибавления рабочего реактива при комнатной температуре (около 20°). Интенсивность окраски остается неизменной в течение нескольких ми-

нут, а затем начинает медленно падать. Поэтому для получения точных результатов измерения развивающейся синей окраски колориметрию необходимо проводить на фотоэлектроколориметре с красным светофильтром строго через 15—20 мин. после добавления рабочего реактива (8).

Построение стандартной кривой можно заменить вычислением количества глюкозы по следующей формуле:

$$\text{Количество глюкозы (в мг \%) в исследуемом растворе} = \frac{\text{Экстинкция исследуемого раствора} \times 100}{\text{Экстинкция стандартного раствора глюкозы}},$$

где 100 — концентрация стандартного раствора глюкозы в миллиграммах в 100 мл раствора (0.1%-й или 100 мг%-й раствор глюкозы).

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕМБРАННОГО ПИЩЕВАРЕНИЯ В КЛИНИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

В настоящее время изучение мембранного пищеварения в клинике затруднительно из-за отсутствия простых и доступных методических подходов. Имеющиеся сведения о такого рода нарушениях получены на основании данных прижизненного морфологического исследования тонкой кишки с помощью аспирационной биопсии, а также биохимических исследований. Значительный интерес представляют сведения, касающиеся адсорбированных на поверхности тонкой кишки ферментов, важная роль которых в осуществлении промежуточных стадий пищеварения известна.

Предлагаемый вниманию метод (Масевич, Уголев, Забелинский, 1967) основан на сравнении амилолитической активности 5 проб, проводимых на кусочке слизистой тонкой кишки, добываемой аспирационной биопсией. Первая проба, получаемая в результате кратковременного промывания биопсированного кусочка, отражает главным образом амилолитическую активность межворсинчатых пространств. Три последующие пробы указывают на динамику десорбции фермента. Уровень активности этих проб характеризует количество адсорбированной амилазы. Содержание амилазы в отдельных пробах при прочих равных условиях свидетельствует о прочности связи с мембранами кишечных клеток. Наконец, пятая проба отражает активность гомогената и позволяет учесть количество амилазы, прочно связанной с эпителиальными клетками кишки.

После биопсии полученный образец слизистой немедленно помещается в 4 мл раствора Рингера (без глюкозы), предварительно охлажденного до 3—5°, где промывается в течение 30 сек. Таким образом смывается амилаза (С-амилаза), которая еще не была сорбирована на поверхности кишки.

Для определения адсорбированной амилазы (суммы Σ Д-амилазы) проводится десорбция последней с кусочка слизистой после удаления смываемого фермента (в течение 9 мин. в Schüttel-аппарате). Десорбция осуществляется последовательно также в охлажденном растворе Рингера (pH 7—7.5), трижды взятом в объеме 4 мл, по 3 мин. в каждом. Таким образом, фракция Σ Д-амилазы разделяется на три подфракции: $Д_1$ — легко десорбируемая амилаза в 4 мл раствора Рингера (первые 3 мин. десорбции), $Д_2$ — более трудно десорбируемая амилаза в таком же объеме раствора Рингера (вторые 3 мин. десорбции) и $Д_3$ — трудно десорбируемая амилаза также в 4 мл раствора Рингера (послед-

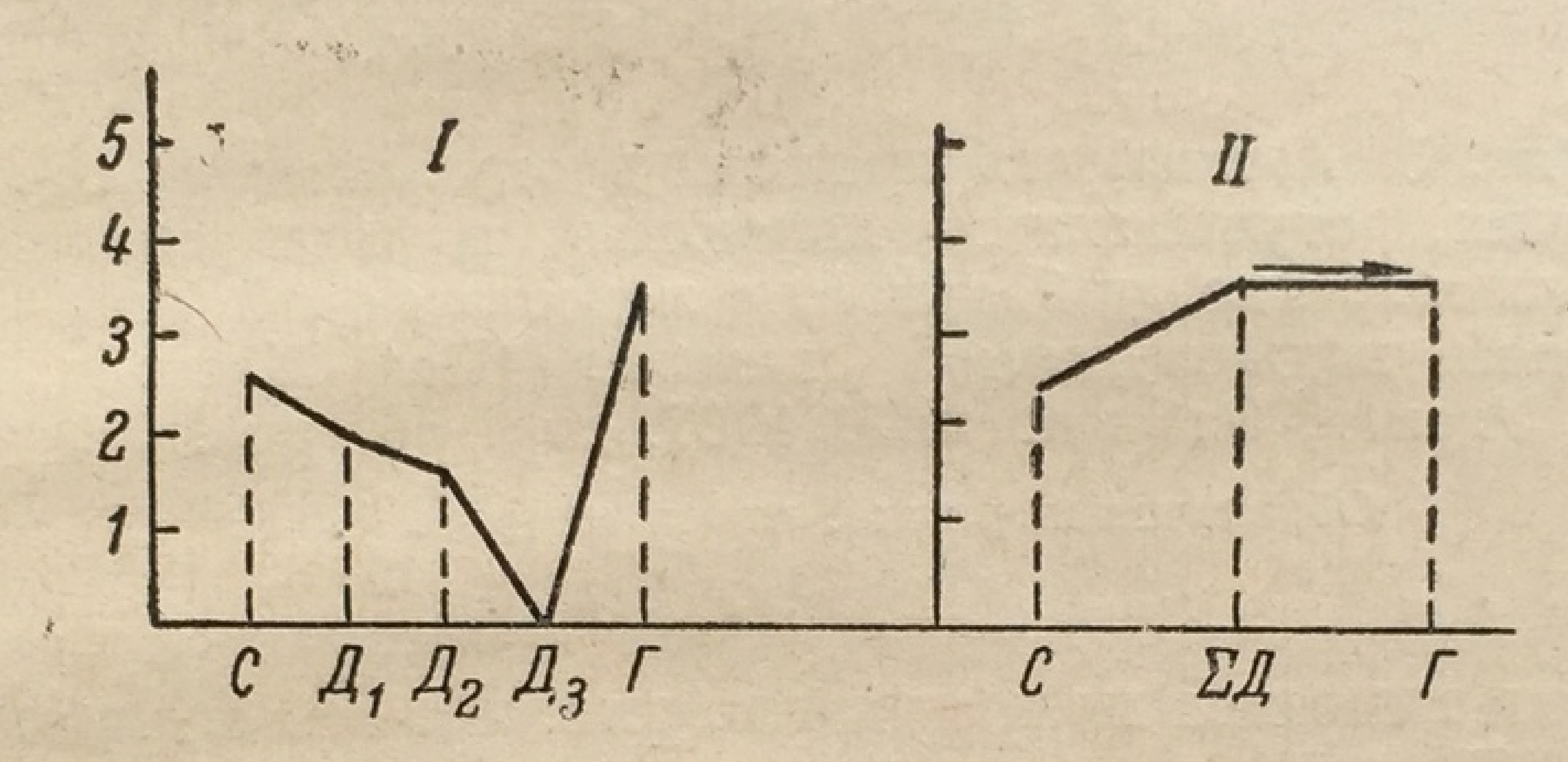


Рис. 4. Активность амилазы в отдельных фракциях, отражающих полостное и мембранное пищеварение, в норме. (По: Масевич, Уголев, Забелинский, 1967, стр. 55, рис. 2).

I — фракции С и Г и подфракции $Д_1$, $Д_2$ и $Д_3$. *II* — фракции С и Г и сумма отдельных подфракций. *По оси абсцисс* — отдельные фракции и подфракции; *по оси ординат* — амилолитическая активность в мкг/мг/мин. гидролизованного субстрата.

ние 3 мин. десорбции). Для получения амилазы гомогената (Г-амилазы) кусочек слизистой кишки с последовательно удаленными С- и Д-амилазой взвешивается на торзионных весах и далее гомогенизируется в 4 мл раствора Рингера. Затем все полученные таким образом растворы амилазы центрифугируются при 5000 оборотах в течение 10 мин., после чего в центрифугатах (надосадочной жидкости) определяется амилолитическая активность методом Смита и Роя (Smyth a. Roe, 1949) в модификации А. М. Уголева. Инкубация проводится при 38° в течение 30 мин., в качестве субстрата используется 0.1%-й раствор растворимого крахмала, приготовленный на растворе Рингера. Активность амилазы выражается в миллиграммах гидролизованного крахмала за 1 мин. в расчете на 1 мг влажного веса ткани.

Амилаза, полученная при кратковременном отмывании — первая фракция С — в норме локализуется, как отмечалось выше, между ворсинок тонкой кишки и участвует в полостном пищеварении. Таким образом, С-фракция может быть использована как один из показателей последнего. Вторая и третья фракции (Д и Г)

принимают участие в процессах мембранного пищеварения. Для численного выражения соотношения между этими показателями можно использовать отношение мембранного пищеварения (М) к полостному (С). В норме эта величина примерно соответствует 2.5—3, т. е. удельный вес мембранного пищеварения в несколько

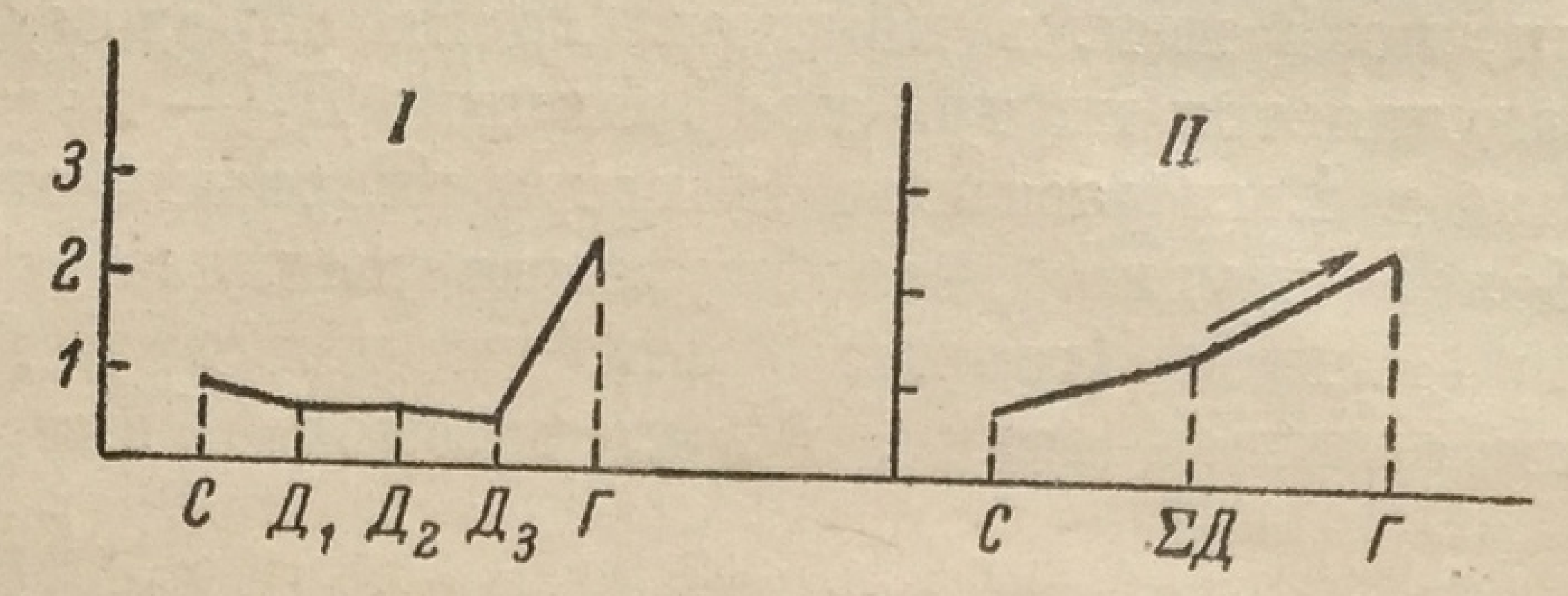


Рис. 5. Активность амилазы в отдельных фракциях, отражающих полостное и мембранное пищеварение, у больного с недостаточной функцией поджелудочной железы. (По: Масевич, Уголев, Забелинский, 1967, стр. 56, рис. 3).

Обозначения те же, что и на рис. 4.

раз превышает таковой полостного (рис. 4). По Г-фракции и подфракциям $Д_1$, $Д_2$ и $Д_3$ можно судить о степени адсорбции амилазы и о прочности ее связи с мембранами кишечных клеток, что также существенно для характеристики особенностей мембранного пищеварения у отдельных больных.

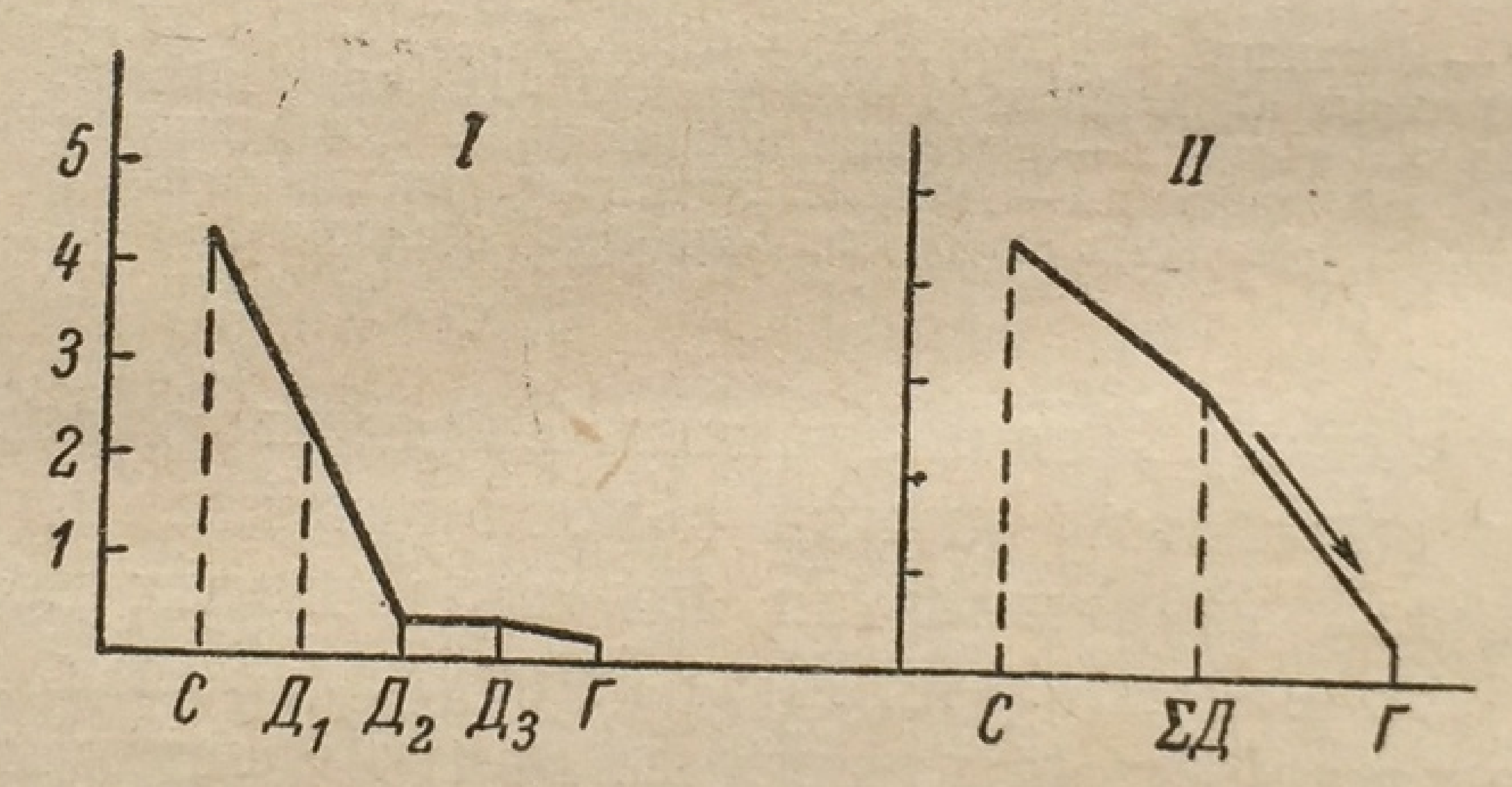


Рис. 6. Активность амилазы в отдельных фракциях, отражающих полостное и мембранное пищеварение, у больного с синдромом хронического энтерита. (По: Масевич, Уголев, Забелинский, 1967, стр. 56, рис. 4).

Обозначения те же, что и на рис. 4.

Вес ткани слизистой тонкой кишки человека для определения функций мембранного пищеварения должен составлять 6—12 мг. Это дает возможность при проведении одной биопсии одновременно использовать полученный кусочек слизистой весом до 25 мг для изучения мембранного пищеварения и гистологического исследования.

Следует отметить, что количество амилазы в тонкой кишке колеблется в довольно широких пределах (С-фракция) и зависит от деятельности поджелудочной железы, моторной функции пищеварительного аппарата, степени разведения секрета поджелудочной железы содержимым желудка, двенадцатиперстной кишки, а также желчью. Таким образом, рассматриваемый показатель дает основание судить о полостном пищеварении, однако он в значительной степени обусловлен деятельностью поджелудочной железы. В качестве примера можно привести больных хроническим панкреатитом, у которых при относительно большом количестве адсорбированной амилазы (нормальном мембранном пищеварении) полостной гидролиз нарушен — отношение М/С равно 6 (рис. 5). Последнее подтверждается нормальной гистологической картиной слизистой.

При морфологических изменениях слизистой тонкой кишки у больных с клинически выраженным энтеритом отмечались другие данные, свидетельствующие о значительном нарушении мембранного пищеварения. При относительно высоких показателях легко десорбируемой амилазы ($Д_1$), подфракции $Д_2$ и $Д_3$, а также Г-фракция выражены незначительно (рис. 6). Важно отметить, что несмотря на высокое полостное пищеварение у некоторых больных имелись признаки энтерита, что еще раз подтверждает необходимость изучения состояния мембранного пищеварения в клинике.

Таким образом, предлагаемый метод не только дает возможность судить о количественной стороне мембранного пищеварения, но и характеризует эту основную функцию тонкой кишки качественно (кинетика десорбции фермента). Приведенный метод дает новую информацию о функции тонкой кишки, он вполне доступен в клиниках и совершенно безопасен для больных.

ЛИТЕРАТУРА

Абасов И. Т. 1962. Клин. мед., № 9, стр. 121.
Алексеев-Беркман И. А. 1954. Клиническая копрология. Медгиз, Л.
Андреева Л. А. 1959. Тез. докл. XII научн. сессии Инст. питания АМН СССР, М., стр. 79.
Анисимов Л. С. 1960. Лаб. дело, № 4, стр. 13.
Асатиани В. С. 1965. Новые методы биохимической фотометрии. Изд. «Наука», М.
Атаханов Э. И. 1966. В кн.: Болезни органов пищеварения, под ред. С. М. Рысса. Изд. «Медицина», Л., стр. 213.
Бабаскин П. М. 1965. Лаб. дело, № 7, стр. 406.
Бабкин Б. П. 1927. Внешняя секреция пищеварительных желез. Госиздат, М.—Л.
Бабкин Б. П. 1960. Секреторный механизм пищеварительных желез. Медгиз, Л.
Бабский Е. Б., А. С. Белоусов, И. И. Малкиман, А. П. Нестерова, А. С. Сорин. 1964а. Докл. АН СССР, т. 156, стр. 719.
Бабский Е. Б., А. М. Сорин, А. С. Белоусов, И. И. Малкиман, А. П. Нестерова. 1964б. Докл. АН СССР, т. 156, стр. 222.
Балаховский С. Д. и И. С. Балаховский. 1953. Методы химического анализа крови. Медгиз, М.
Бахменд Г. А. 1964. Актуальные вопросы гастроэнтерологии. Тр. ЛГСМИ, в. 79, стр. 58.
Белоусов А. С., И. И. Малкиман, А. М. Сорин. 1964. Вестн. АМН СССР, № 2, стр. 71.
Беюл Е. А. 1961. Хронические энтериты. Медгиз, Л.
Блинов В. Д. 1966. Лаб. дело, № 10, стр. 606.
Блюгер А. Ф., Б. К. Беспрозванный, А. И. Клембовский, М. П. Синельникова, О. Б. Шумкина. 1964. Тонкая структура печени при некоторых патологических процессах. Электронномикроскопический атлас. Рига.
Блюгер А. Ф., М. П. Синельникова. 1962. Прижизненное морфологическое изучение печени. Рига.
Бондарь З. А. 1965. Желтухи. Изд. «Медицина», М.
Борисов П. И., В. И. Розенгарт. 1950. Вопр. мед. химии, т. 2, стр. 53.
Вапплер П. 1960. В кн.: Справочник по клиническим функциональным исследованиям, под ред. А. Гиттера. Медгиз, М., стр. 248.

Виллако К., Л. Ханге. 1959. Тр. совещ. по проблемам физиол. и патол. пищевар., посвящ. 40-й годовщ. Великой Окт. соц. революции, Тарту, стр. 761.
Водкайло Ш. И. 1964. Лаб. дело, № 2, стр. 89.
Волкова М. А., Н. В. Обухов, В. З. Агранат. 1962. Мед. радиология, т. X, № 10, стр. 8.
Гельман Б. Л. 1954. Терап. архив, т. XXVI, в. 4, стр. 65.
Гиттер А., Л. Хейльмейер. 1966. Справочник по клиническим функциональным исследованиям. Изд. «Медицина», Л.
Глоуцал Л. 1967. Заболевания желчного пузыря и желчных путей. Прага.
Глускина В. М. 1965. Лаб. дело, № 3, стр. 142.
Глускина В. М. 1966. Лаб. дело, № 12, стр. 744.
Гольденберг Н., О. Бернягэ, В. Абабей. 1959. Сов. мед., № 4, стр. 92.
Горелов Г. А. 1964. Лаб. дело, № 3, стр. 151.
Горжейши Я. 1967. Основы клинической биохимии в клинике внутренних болезней. Прага.
Городецкий В. К. 1964. В кн.: Современные методы в биохимии, под ред. В. Н. Ореховича, т. I. Изд. «Медицина», М., стр. 311.
Городецкий Э. О. 1958. Клин. мед., № 2, стр. 120.
Горшкова С. М., И. Т. Курцин. 1967. Механизмы желчевыделения. Изд. «Наука», Л.
Губергриц А. Я. 1960. Диагностическое значение лабораторных исследований. Медгиз, М.
Губергриц А. Я. 1963. Болезни желчных путей. Медгиз, М.
Губергриц А. Я. 1964. Физиология и патология всасывания в желудочно-кишечном тракте. Матер. симпозиума, Одесса, стр. 116.
Гукасян А. Г. 1964. Болезни кишечника. Изд. «Медицина», М.
Гукасян А. Г., З. М. Садокова, Б. Я. Воловник. 1959. Тер. архив, т. XXXI, в. 8, стр. 52.
Гусарова Н. Д., Ф. Г. Сивашинская. 1964. Лаб. дело, № 2, стр. 93.
(Дерецкий И.) Dereck J. 1965. В кн.: Лабораторные методы клинического исследования, под ред. М. Тульчинского. Варшава, стр. 292.
Джорджеску П., Е. Пэунеску. 1963. Биохимические методы диагноза и исследования. Бухарест.
Диксон М. и Э. Уэбб. 1961. Ферменты. Изд. иностр. лит., М.
Диксон М. и Э. Уэбб. 1966. Ферменты. Изд. «Мир», М.
Думеш М. 1965. Изв. Акад. наук Латв. ССР, № 11, стр. 107.
Жамеричев С. С. 1953. Военно-мед. журнал, № 4, стр. 40.
Забелина Т. Н. 1966. В кн.: Болезни органов пищеварения, под ред. С. М. Рысса. Изд. «Медицина», Л., гл. XV.
Закржевский Е. Б. 1960. Пункционная биопсия печени и ее диагностическое значение. Медгиз, Л.
Закржевский Е. Б. 1961. Функциональная диагностика заболеваний поджелудочной железы. Медгиз, Л.
Закржевский Е. Б. 1966. В кн.: Болезни органов пищеварения, под ред. С. М. Рысса. Изд. «Медицина», Л., гл. XX.
Идельсон Л. И. 1958. Тер. архив, т. XXX, в. 2, стр. 52.
(Калицинский А.) Kalicinski A. 1965. В кн.: Лабораторные методы клинического исследования, под ред. М. Тульчинского. Варшава, стр. 231.
Канищев П. А. 1959. Военно-мед. журнал, № 5, стр. 69.
Канищев П. А. 1960. Клин. мед., № 8, стр. 148.
Канищев П. А. 1964. Методы диагностики заболеваний желудка. Изд. «Медицина», Л.

14 Заказ № 1392

Карбач Я. И. 1962. Методы количественного определения желчных кислот в крови и желчи. Автореф. дисс. Симферополь.
Каримова С. Б. 1963. Мед. радиология, т. VIII, № 6, стр. 19.
Комаров Ф. И. 1953. Секреторная деятельность пищеварительных желез у человека во время сна. Медгиз, М.—Л.
Коростовцев С. Б. 1963. Лаб. дело, № 1, стр. 30.
Коростовцев С. Б., К. И. Сауткин, И. С. Станцелис. 1966. Сов. мед., № 7, стр. 142.
Корж Г. Д. 1948. Клин. мед., № 7, стр. 56.
Коротько Г. Ф. 1965. Инкреция и выделение пепсиногена. Изд. «Медицина», Узб. ССР, Ташкент.
Краснобаева Т. М. 1964. Лаб. дело, № 1, стр. 10.
Лебедев Ф. М. 1959. Динамика функционального состояния желудка и высших отделов центральной нервной системы при лечении больных язвенной болезнью. Автореф. дисс. Л.
Лейбсон Л. Г. 1962. Сахар крови. Изд. АН СССР, М.—Л.
Лепорский Н. И. 1928. Клин. мед., № 11, стр. 661.
Лещинский Л. А., В. И. Рябов. 1959. Тер. архив, т. XXXI, № 3, стр. 62.
Линар Е. Ю. 1957. Тез. докл. научн. совещ. по пробл. физиол. и патол. пищевар., посвящ. 40-й годовщ. Великой Окт. соц. революции, Тарту, стр. 137.
Логинов А. С. 1962. Клин. мед., № 3, стр. 20.
Логинов А. С. 1965. В кн.: Инструментальная диагностика заболеваний печени. Изд. «Медицина», М.
Логинов А. С. 1966. В кн.: Успехи гепатологии, под ред. Е. М. Тареева и А. Ф. Блюгера. Изд. «Звайгзне», Рига.
Ломаченков В. Д., М. П. Смирнов. 1963. В кн.: Вопросы патологии желчной системы. Калинин.
Маждраков Г. М. 1961. Болезни поджелудочной железы. София.
Мансуров Х. Х. 1962. В кн.: Актуальные вопросы патологии печени. Изд. АН Тадж. ССР, Душанбе.
Мансуров Х. Х. 1965. В кн.: Инструментальная диагностика заболеваний печени. Изд. «Медицина», М., стр. 99.
Мансурова И. Д. 1966. В кн.: Успехи гепатологии, под ред. Е. М. Тареева и А. Ф. Блюгера. Изд. «Звайгзне», Рига, стр. 257.
Мансурова И. Д. 1967. Обменные процессы при диффузных поражениях печени. Изд. «Дониш», Душанбе.
Масевич Ц. Г. 1961а. Тр. ЛСГМИ, в. 37, стр. 58.
Масевич Ц. Г. 1961б. Тр. ЛСГМИ, в. 37, стр. 56.
Масевич Ц. Г. 1964. Тр. ЛСГМИ, в. 79, стр. 21.
Масевич Ц. Г. 1965. Матер. XIV Всес. конф. терап. по пробл. «Хронические заболевания кишечника (неинфекционные)», М., стр. 39—40.
Масевич Ц. Г. 1967. Аспирационная биопсия слизистых оболочек желудка, двенадцатиперстной и тонкой кишки. Изд. «Медицина», Л.
Масевич Ц. Г., А. М. Уголев, Э. К. Забелинский. 1967. Тер. архив, т. XXXIX, № 8, стр. 53.
Маслова Г. К. 1963. В кн.: Вопросы патологии желчной системы. Калинин.
Мерина-Глускина В. М. 1965. Лаб. дело, № 3, стр. 142.
Меркулов Г. А. 1956. Курс патогистологической техники. Медгиз, Л.
Методические письма АМН СССР. 1962а. Инст. биол. и мед. химии, в. 19.
Методические письма АМН СССР. 1962б. Инст. биол. и мед. химии, в. 20.
Митропольский А. Н. 1963. Лаб. дело, № 9, стр. 30.
Михайлова Н. Д. 1962. Пособие по копрологическим исследованиям. Медгиз, Л.

Михаэлис В. 1960. В кн.: Справочник по клиническим функциональным исследованиям, под ред. А. Гиттера. Медгиз, М., стр. 234.
Михлин С. Я. 1955. Вопр. мед. химии, т. 1, в. 3, стр. 210.
Михлин С. Я. 1961. Клин. мед., т. 39, № 7, стр. 61.
Мошняга Т. В. 1963. Мед. радиол., т. VIII, № 8, стр. 22.
Несговорова Л. И. 1960. Клин. мед., т. XXXVIII, № 8, стр. 36.
Новиков В. С. 1952. Диагностическое значение желудочного лейкопедеза и изменений в кроветворении при различных формах хронического гастрита. Автореф. дисс. Л.
Ногаллер А. М. 1966. Диагностика и лечение хронических заболеваний органов пищеварения. Изд. «Медицина», М.
Нортроп Д., М. Кунитц, Р. Херриотт. 1950. Кристаллические ферменты. Изд. иностр. лит., М.
Павлов И. П. (1897). Лекции о работе главных пищеварительных желез. Полн. собр. соч., т. II, кн. 2, Изд. АН СССР, М.—Л., 1951.
Патцер Ф. 1960. В кн.: Справочник по клиническим функциональным исследованиям, под ред. А. Гиттера. Медгиз, М., стр. 204.
Певзнер М. И. 1958. Основы лечебного питания. Медгиз, М.
Петровский Ю. А. 1947. Внешняя секреция печени. Изд. «Вільна», Львов.
Пирс Э. 1962. Гистохимия. Теоретическая и прикладная. Изд. иностр. лит., М.
Подильчак М. Д. 1967. Клиническая энзимология. Изд. «Здоровье», Киев.
Покровский А. А. 1961. Бюлл. экспер. биол. мед., т. 51, стр. 99.
Покровский А. А. 1962. Химические основы процессов жизнедеятельности. Медгиз, Л.
Предтеченский В. Е. 1960. Руководство по клиническим лабораторным исследованиям, под ред. Л. Г. Смирновой и Б. М. Кост. Медгиз, М.
Простяков К. М. и Е. А. Беюл. 1957. Тез. докл. научн. конф. по лечебному питанию, М., стр. 39.
Пятницкий Н. П. 1965. Лаб. дело, № 6, стр. 347.
Рийв Я. 1957. Тез. докл. научн. совещ. по пробл. физиол. и патол. пищевар., посвящ. 40-й годовщ. Великой Окт. соц. революции, Тарту, стр. 107.
Рысс С. М. 1965. Матер. XIV Всес. конф. по терап. по пробл. «Хронические заболевания кишечника (неинфекционные)», М., стр. 54.
Сабсай Б. И. 1966. Лаб. дело, № 10, стр. 602.
Самнер Д. Б. и Г. Ф. Соммерс. 1948. Химия ферментов и методы их исследования. Изд. иностр. лит., М.
Саратиков А. С. 1962. Желчеобразование и желчегонные средства. Томск.
Серегин М. С., Я. В. Эйдинов. 1963. Лаб. дело, № 11, стр. 29.
Симбирцева Г. Д. 1960. Диагностическое значение определения уропепсина. Автореф. дисс. Черновцы.
(Симонович Н.) Symonowicz N. 1965. В кн.: Лабораторные методы клинического исследования, под ред. М. Тульчинского. Варшава, стр. 195.
Сквабченкова Л. Ю. 1965. Лаб. дело, № 11, стр. 93.
Смагин В. Г. 1966. В кн.: Болезни органов пищеварения, под ред. С. М. Рысса. Изд. «Медицина», Л.
Смирнов А. В. 1966. В кн.: Болезни органов пищеварения, под ред. С. М. Рысса. Изд. «Медицина», Л.
Смирнов И. П. 1961. Тер. архив, т. XXXIII, в. 5, стр. 63.
Сулло К. М. 1964. Лабор. дело, № 2, стр. 87.
Ташев Т. 1964. Болезни желудка, кишечника и брюшины. Изд. «Медицина и физкультура», София.
Тиманов В. А. и Ю. И. Фишзон-Рысс. 1967. Тер. архив, т. XXXIX, в. 8, стр. 57.

Тихонов В. П. 1964. Нарушение функции поджелудочной железы при хронических заболеваниях органов пищеварения. Автореф. дисс. Волгоград.
Товарницкий В. И. 1964. В кн.: Современные методы в биохимии, под ред. В. Н. Ореховича, т. I. Изд. «Медицина», М., стр. 303.
Тодоров И. 1963. Клинические лабораторные исследования в педиатрии. София.
Тодоров И. 1966. Клинические лабораторные исследования в педиатрии. София.
Туголуков В. Н. 1961. Тр. ЛСГМИ, в. 73, стр. 60.
Туголуков В. Н. 1962. Лаб. дело, № 3, стр. 3.
Туголуков В. Н. 1965. Современные методы функциональной диагностики состояния слизистой оболочки желудка и их клиническое значение. Изд. «Медицина», Л.
(Тульчинский М.) Tulczynski M. 1965. В кн.: Лабораторные методы клинического исследования, под ред. М. Тульчинского. Варшава, стр. 452.
Уголев А. М. 1958. Приспособление пищеварительных желез к качеству пищи. Автореф. дисс. М.
Уголев А. М. 1961. Пищеварение и его приспособительная эволюция. Изд. «Высшая школа», М.
Уголев А. М. 1963. Пристеночное (контактное) пищеварение. Изд. АН СССР, М.—Л.
(Уголев А. М.) Ugolev A. M. 1965. Physiol. Rev., v. 45, p. 555.
(Уголев А. М. Ugolev A. M. 1966. Die Nährung, Bd. 10, S. 483.
Уголев А. М. 1967. Физиология и патология пристеночного пищеварения. Изд. «Наука», Л.
Уголев А. М., Н. Н. Иезуитова, Т. Я. Надирова, Н. М. Тимофеева. 1966. Докл. АН СССР, т. 166, № 2, стр. 472.
Уманский А. А. 1949. Врач. дело, т. 5, стр. 413.
Файгль. Ф. 1962. Капельный анализ органических веществ. Госхимиздат, М.
Фатеева М. Н. 1960. Очерки радиоизотопной диагностики. М.
Фатеева М. Н. 1965. В кн.: Инструментальная диагностика заболеваний печени. Изд. «Медицина», М.
Фатеева М. Н., А. С. Логинов, А. С. Иваницкая, Ю. М. Кириллов. 1962. Мед. радиология, т. X, № 10, стр. 3.
Финько Д. И. 1963. Врач. дело, т. 5, стр. 146.
Фишер А. 1961. Физиология и экспериментальная патология печени. Будапешт.
Фомина Л. С. 1964. В кн.: Современные методы в биохимии, под ред. В. Н. Ореховича, т. I. Изд. «Медицина», М.
Фомина Л. С., С. Я. Михлин, Г. К. Шлыгин. 1952. Биохимия, в. 2, стр. 134.
Фролькис А. В. 1964. Функциональные взаимосвязи кишечника и желудка. Медгиз, Л.
Фрумузан П. 1961. Клин. мед., т. 39, № 2, стр. 23.
Хитрово-Горева Т. В. 1960. Лаб. дело, № 5, стр. 42.
Чернышева Е. В. 1965. В кн.: Инструментальная диагностика заболеваний печени. Изд. «Медицина», М.
Шварцман З. Д. 1961. Тер. архив, т. XXXIII, № 10, стр. 55.
Шварцман З. Д. 1964. Значение фракционного определения билирубина крови методом хроматографии при желтухах различного происхождения. Автореф. дисс. Л.
Шевченко И. А. 1960. Новости мед. техники, № 4, стр. 43.
Шелагуров А. А. 1964. Методы исследования в клинике внутренних болезней. Изд. «Медицина», М.
Шелагуров А. А. 1967. Панкреатиты. Изд. «Медицина», М.

Шелагуров А. А., Л. П. Воробьев. 1967. В кн.: Вопросы панкреатологии, под ред. А. А. Шелагурова и З. К. Трушинского, в. 2. М.
Шилов П. И. и Ф. М. Лебедев. 1961. Тер. архив, т. XXXIII, в. 4, стр. 54.
Шилов П. И. и Л. И. Казбинцев. 1963. Функциональная диагностика заболеваний желудка. Медгиз, Л.
Шлыгин Г. К. 1964. В кн.: Современные методы в биохимии, под ред. В. Н. Ореховича, т. I. Изд. «Медицина», М., стр. 282.
Штрауб Ф. Б. 1963. Биохимия. Будапешт.
Энгельгардт В. А. и М. Герчук. 1925. Журн. экспер. биол. и мед., № 2, стр. 88.
Ясиновский М. А. 1940. Тр. XII Всес. съезда терапевтов, М.—Л., стр. 207.

Abderhalden R. 1958. Klinische Enzymologie. Stuttgart.
Adams H. M., W. I. Card, M. J. Riddel, M. Roberts, J. A. Strong, B. Woolf. 1954. Brit. J. Pharm., v. 9, p. 329.
Adlersberg D. and H. Sobotka. 1941. Gastroenterology, v. 1, p. 257.
Adlersberg D., C. I. Wang and E. T. Bossak. 1957. J. Mt. Sinai Hosp., v. 24, p. 206.
Afifi F., L. Hartman, A. Lokerdo and R. Fauvert. 1963. Ann. Nutr. (Paris), v. 17, p. 263.
Agren G. and H. Lagerlof. 1936. Acta med. Scand., Suppl., v. 78, p. 220.
Alexander B., G. Landwehr and A. Seligman. 1945. J. Biol. Chem., v. 160, p. 51.
Althausen T. L. 1939. J. A. M. A., v. 113, p. 1552.
Althausen T. L. and K. Uyeyama. 1954. Ann. Intern. Med., v. 41, p. 563.
Althausen T. L. and K. Uyeyama. 1961. Gastroenterology, v. 40, p. 470.
Andrysek O. 1963. Vnitrni Lek., v. 9, p. 590.
Anfanger H. and R. M. Heavenrich. 1959. Am. J. Dis. Child, v. 77, p. 429.
Anson M. L. and A. E. Mirsky. 1932. J. Gen. Physiol., v. 16, p. 59.
Ashworth C. T. and W. C. Chears. 1962. Feder. Proc., v. 21, p. 880.
Auricchio S., A. Rubino, M. Landolf, G. Semenza and A. Prader. 1963. Lancet., v. II, p. 324.
Ayre J. E. and B. J. Oren. 1953. Cancer, v. 6, p. 1177.
Baginski E. and B. Zak. 1960. Clin. Chim. acta, v. 5, p. 834.
Baker S. J. and A. Hughes. 1960. Lancet, v. 2, p. 686.
Baron J. H. 1965. Am. J. Gastroenterology, v. 44, p. 423.
Baylin G. J., A. P. Saunders, J. K. Isley, W. M. Shingleton, J. C. Hymans, D. H. Johnston, J. M. Ruffin. 1955. Proc. Soc. Exper. Biol. and Med., v. 89, p. 51.
Beck J. T., S. Rona, R. D. McKenna and D. S. Kahn. 1962. Am. J. Dig. Dis., v. 7, p. 936.
Benson J. A., P. J. Culver, S. Ragland, C. M. Jones, G. D. Drummey and E. Bongas. 1957. New England J. Med., v. 256, p. 335.
Bessey O. A., O. H. Lowry, M. J. Brock and J. A. Lopez. 1946. J. Biol. Chem., v. 166, p. 177.
Bianketti E. und Th. Gerber. 1958. Schweiz. med. Wschr., Bd. 88, S. 736.
Billing B. H. 1955. J. Clin. Path., v. 8, p. 126.
Billing B. H. and G. H. Lathe. 1956. Biochem. J., v. 63, p. 6.
Billing B. H. and G. H. Lathe. 1958. Am. J. Med., v. 24, p. 111.

Blankerhorn D. H., J. Hirsh and E. A. Ahrens. 1955. Proc. Soc. Exper. Biol., N. Y., v. 88, p. 356.
Blum H. 1960. Röntgen. lab. Prax., Bd. 13, S. 52.
Bock O. A. A. and L. J. Witts. 1961. Brit. Med. J., № 5253, p. 665.
Bock O. A. A., G. Aparakis, L. J. Witts and W. Richards. 1963. Gut, v. 4, p. 106.
Bockus H. L. 1963. Gastroenterology, v. 1. Philadelphia—London.
Bockus H. L. 1964. Gastroenterology, v. 2. Philadelphia—London.
Bockus H. L. 1965. Gastroenterology, v. 3. Philadelphia—London.
Bockus H. L., C. Glassmire and J. Bank. 1931. Am. J. Surg., v. 12, p. 6.
Bockus H. L., V. Tachdjin, L. K. Ferguson, J. Mouhran and C. Chamberlain. 1961. Gastroenterology, v. 41, p. 225.
Bodansky A. 1933. J. Biol. Chem., v. 101, p. 93.
Bolt R. J., F. G. Ossius, H. M. Pollard. 1957. Gastroenterology, v. 32, p. 34.
Borgström B., A. Dahlqvist, G. Lundh and J. Sjövall. 1957. J. Clin. Invest., v. 36, p. 1521.
Borgström B., G. Lundh and A. F. Hoffman. 1963. Gastroenterology, v. 45, p. 229.
Boutwell J. H. 1961. Clinical Chemistry. Philadelphia.
Boyer P., H. Lardy and K. Myrbäck. 1963. The Enzymes, v. 7, N. Y.—London.
Brandborg L. L., C. E. Rubin, W. E. Quinton. 1959. Gastroenterology, v. 37, p. 1.
Bruns F. 1954. Biochem. Zschr., Bd. 325, S. 429.
Bruns F. H. and W. Jacob. 1954. Klin. Wschr., Bd. 32, S. 1041.
Bruns F. and W. Puls. 1954. Klin. Wschr., Bd. 32, S. 656.
Bucher G. R. 1947. Gastroenterology, v. 8, p. 627.
Busch H. 1959. Chemistry et pancreatic diseases. Springfield, III (микрофильм).
Butterworth C. E., E. Perez-Santiago, M. de Jesus and P. Santini. 1959. New England J. Med., v. 261, p. 157.
Chesney J. and A. McCoord. 1934. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., v. 31, p. 887.
Chinn A. B., P. S. Lavik, R. M. Stitt and G. W. Buckaloo. 1952. New England J. Med., v. 247, p. 877.
Christensen B. C. 1963. Acta med. Scand., v. 173, p. 315.
Clementi M. A. 1958. Rev. int. Hepat., № 8, p. 223.
Clement G. 1964. J. Physiol. (Paris), v. 56, p. 113.
Code C. F. 1956. Histamine and Gastric Secretion. London.
Cole P. G. and G. H. Lathe. 1953. J. Clin. Path., № 6, p. 99.
Cole P. G., G. H. Lathe and B. H. Billing. 1954. Biochem. J., v. 57, S. 514.
Combes B. 1964. The Liver Morfology, Biochemistry. Physiology. Ed. Ch. Rouiller. Acad. Press, N. Y.—London.
Comfort M. W. 1937. Am. J. Dig. Dis., v. 3, p. 817.
Comfort M. W., E. E. Wollaeger, A. B. Taylor and M. H. Power. 1953. Gastroenterology, v. 23, p. 115.
Con A. G. 1963. Gastroenterology, v. 44, p. 275.
Consolazio C. F., R. E. Johnson and E. Marek. 1951. Metabolic Methods: Chemical procedures in the study of metabolic functions. St. Louis.
Cook W. T. 1958. Brit. Med. J., v. 5091, p. 261.
Crosby W. H. 1963. Am. J. Dig. Dis., v. 8, p. 2.
Crosby W. H. and H. W. Kugler. 1957. Am. J. Dig. Dis., New Series, v. 2, p. 236.

Cummins A. J. and R. Jussila. 1955. Gastroenterology, v. 29, p. 982.
Dahlqvist A. 1964. Analytical Biochemistry, v. 7, p. 18.
Dahlqvist A. 1965a. In: Enzymes in Clinical Chemistry. Ed. R. Ruyssen and L. Vandendriessche. Amsterdam—London—N. Y.
Dahlqvist A. 1965b. In: Recent Advances in Gastroenterology. Ed. J. Badenoch and B. N. Brooke. Boston.
Dahlqvist A. and B. Borgström. 1961. Biochem. J., v. 81, p. 411.
Dahlqvist A., J. B. Hammond, R. K. Crane, J. V. Dunphy and A. Littman. 1963. Gastroenterology, v. 45, p. 488.
Danielsson H. 1963. Am. J. Clin. Nutr., v. 12, p. 214.
Deren J. J., L. A. Williams, H. Muench, T. Chalmers and N. Zamcheck. 1964. New England J. Med., v. 270, p. 1277.
Dische Z. 1949. J. Biol. Chem., v. 181, p. 379.
Dobrowolski L. A. 1964. Arztl. Prax., Jg., 16, S. 657.
Dounce A. L., S. K. Barnett and G. T. Beyer. 1950. J. Biol. Chem., v. 185, p. 769.
Dreiling D. A. 1953. Gastroenterology, v. 24, p. 540.
Dreiling D. A. and H. D. Janowitz. 1956. Gastroenterology, v. 30, p. 382.
Dreiling D. A. and H. D. Janowitz. 1962. Ciba Foundation Symposium on the Exocrine Pancreas Normal and Abnormal Functions. Ed. A. V. S. de Reuck. Cameron.
Dreiling D. A., H. D. Janowitz and C. V. Perrier. 1964. Pancreatic Inflammatory disease. A physiological approach. N. Y.—London.
Drube H. C. 1960. Internist, v. 1, p. 186.
Edwards K., K. P. Jepson and K. F. Wood. 1960. Brit. Med. J., v. 2, p. 30.
Eegriwe E. 1937. J. Anal. Chem., v. 110, p. 22.
Elson K. A., F. W. Chornock and F. G. Dickey. 1942. J. Clin. Invest., v. 21, p. 795.
Flick A. L., W. E. Quinton and C. E. Rubin. 1961. Gastroenterology, v. 40, p. 120.
Fodor O. 1963. Dtsch. Gastroenterologie, Bd. 3, S. 256.
Folin O. and V. Ciocalteu. 1927. J. Biol. Chem., v. 73, p. 627.
Fordtran J. S., K. H. Soergel and F. J. Ingelfinger. 1962. New England J. Med., v. 267, p. 274.
Fowweather F. S. 1926. Brit. J. Exper. Path., v. 7, p. 7.
Frazer A. C. 1955. Brit. Med. J., v. 1, p. 805.
Flick A. L., W. E. Quinton, C. E. Rubin. 1961. Gastroenterology, v. 40, p. 120.
Galdi R. 1966. Rif. med., v. 80, p. 13.
Gamble J. R. and D. L. Wilbur. 1961. Chemistry of Digestive Diseases. Springfield.
Gardner F. H. 1956. A. M. A. Arch. Int. Med., v. 98, p. 44.
Gardner F. H. and E. Perez-Santiago. 1956. A. M. A. Arch. Int. Med., v. 98, p. 467.
Gilman S. and A. L. Abrams. 1956. New England J. Med., v. 255, p. 508.
Glass G. B. J. 1953. Gastroenterology, v. 23, p. 636.
Glass G. B. J. 1963. In: Current Gastroenterology, ed. G. McHardy. N. Y., p. 90.
Glass G. B. and S. Wolf. 1950. Proc. Soc. Exper. Biol., v. 73, p. 535.
Goldbarg J. A. and A. M. Rutenburg. 1958. Cancer, v. II, p. 283.
Goldbarg J. A., E. P. Pineda and A. M. Ruttenburg. 1959. Am. J. Clin. Path, v. 32, p. 571.

Goldbloom A. A., M. A. Feinstein, H. B. Eiber. 1955. Am. J. Dig. Dis., v. 22, p. 288.
Gordon R. S. Jr. 1958. J. Polym. Sci., v. 31, p. 191.
Gordon R. S. Jr. 1959. Lancet, v. 1, p. 325.
Grabener E. 1960. Internist, v. 1, p. 179.
Green M. N., K.-Ch. Tsou, R. Bressler and A. M. Seligman. 1955. Arch. Biochem. a. Biophysics, v. 57, p. 458.
Green P. A. and E. E. Wollaeger. 1959. Proc. World Cong. Gastroenterology, Baltimore, p. 558 (цит. по: Bockus, 1964).
Gregerson J. P. 1919. Arch. Verdauungskrank, Bd. 25, S. 169.
Gregor O. 1961. Uropepsin. Praha.
Gries F. A. und G. Gries. 1956. Klin. Wschr., Bd. 34, S. 1084.
Grossman I. M. I. and P. H. Jordan. 1958. Gastroenterology, v. 34, p. 892.
Gryboski J. D., W. R. Thayer, J. W. Gabrielson and H. M. Spiro. 1963. Gastroenterology, v. 45, p. 633.
Gülzow. 1961. In: Lehrbuch der inneren Medizin. Jena, S. 343.
Gutman and Alexander. 1947. Цит. по: Беюл, 1961.
Hafter E. 1962. Praktische Gastroenterologie. Zurich.
Halmer O. M. and P. J. Fouts. 1937. J. Clin. Invest., v. 16, p. 343.
Hammerl H. und I. Holler. 1961. Münch. med. Wschr., Jg. 103, № 4, S. 186.
Hanahan D. J. and J. N. Olley. 1958. J. Biol. Chem., v. 231, p. 813.
Hankiewiez J. 1965. Zschr. ges. inn. Med., Bd. 19—20, S. 624.
Harper H. A. 1959. Review of Physiological Chemistry. Seventh edition. California.
Harper A. and K. Uyeyama. 1948. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., v. 68, p. 296.
Harris F. J. 1944. J. A. M. A., v. 125, p. 784.
Hartman R. S., C. E. Butterworth and R. E. Hartman. 1960. Gastroenterology, v. 38, p. 506.
Heilmeyer L. und W. Krebs. 1931. Biochem. Zschr., Bd. 231, S. 393.
Heinkel K., N. Henning, J. Landgraf, G. Zeitler und K. Elster. 1962. II. Weltkongress. f. Gastroenterologie, München, Bd. II, S. 58.
Held R. 1965. Gyógyszeréink, Bd. 15, S. 15.
Henning N. 1952. Dtsch. med. Wschr., Bd. 77, S. 1.
Henning N. und K. Heinkel. 1955. Münch. med. Wschr., Bd. 25, S. 832.
Henning N., K. Heinkel und W. Frike. 1960. Dtsch. med. Wschr., Bd. 20, S. 873.
Henning N., K. Heinkel, H. Kořokussis, J. Landgraf und K. Elster. 1962. Dtsch. med. Wschr., Bd. 20, S. 1029.
Henning N. und H. Kinzemeier. 1952. Dtsch. med. Wschr., Bd. 77, S. 998.
Henry R. J., C. Sabel and S. Berkman. 1957. Chin. Chem., v. 3, p. 77.
Hess B. 1962. Enzyme im Blutplasma. Stuttgart.
Hiatt H. H. 1957. J. Biol. Chem., v. 224, p. 851.
Hightower N. C. 1962. Review of Modern. Med., p. 191.
Hightower N. C. 1963. In: Current Gastroenterology, ed. G. McHardy. N. Y., p. 56.
Hildebrand H. 1901. München. med. Wschr., Bd. 48, S. 2008 (цит. по: Bockus, 1964).
Hirschowitz B. J. 1963. In: Current Gastroenterology, ed. G. McHardy. N. Y., p. 152.
Hirschowitz B. J. and J. A. Balint. 1961. Fed. Proceed., v. 20, p. 246.

Hoffmann H. N. 1963. In: Current Gastroenterology, ed. G. McHardy. N. Y., p. 388.
Hoffmann H. und H. Oettel. 1959. Arztl. Wschr., Bd. 9, S. 965.
Hoffmann A. F. and B. Borgström. 1964. J. Clin. Invest., v. 43, p. 247.
Hokin L. E. and M. K. Hokin. 1962. In: The Exocrine Pancreas. Ciba Foundation. Boston, p. 186.
Hollander F. 1954. Arch. int. Med., v. 93, p. 107.
Holzel A. 1965. Pediat. Clin. N. Amer., v. 12, p. 635.
Hooft C., Van Hauwaert, P. De Paey and K. Adriaenssens. 1963. Lancet, v. II, p. 791.
Huerga J. de la and J. C. Scherrick. 1961. Measurements of Exocrine and Endocrine Functions of the Pancreas. Ed. F. W. Sundermann and F. W. Sundermann. Philadelphia—Montreal.
Hunstman R. G. and L. Lindell. 1961. J. Clin. Path., v. 14, p. 436.
Hyden S. 1955. Ann. Agr. Coll. (Sweden), v. 22, p. 139.
Hyden S. 1956. Ann. Agr. Coll. (Sweden), v. 22, p. 411.
Ihre B. J. E. 1954. In: Der Magen und Seine Krankheiten. Wien, S. 255.
Innerfield J., A. Angrist and J. Benjamin. 1960. Bull. N. Y. Acad. Med., v. 27, p. 399.
Isselbacher K. J. and J. R. Senior. 1964. Gastroenterology, v. 46, p. 287.
Jablonská M., L. Stamidis, E. Součková und J. Snobl. 1967. Zschr. ges. inn. Med., Bd. 6, S. 166.
Jackson S. H. 1961. Clin. Chem., v. 7, p. 512.
Jacobson E. D., D. C. Bondy, S. A. Broitman and J. S. Fordtran. 1963. Gastroenterology, v. 44, p. 761.
Janowitz H. D. 1963. In: Current Gastroenterology, ed. G. McHardy. N. Y.
Jeffries G. H., E Weser and M. H. Sleisenger. 1964. Gastroenterology, v. 46, p. 434.
Jendrassik L. und P. Grof. 1938a. Biochem. Zschr., Bd. 296, S. 71.
Jendrassik L. und P. Grof. 1938b. Biochem. Zschr., Bd. 297, S. 81.
Kabler J. D., W. H. Atwood and R. F. Schilling. 1959. J. Lab. and Clin. Med., v. 54, p. 427.
Kalser M. H. In: Bockus, 1964, p. 423.
Kaplan E., B. D. Edidin, R. C. Fruin and L. A. Baker. 1958. Gastroenterology, v. 34, p. 901.
Karmen A., F. Wroblewski and J. S. La Due. 1955. J. Clin. Invest., v. 34, p. 1261.
Kay A. W. 1953. Brit. med. J., v. 2, p. 77.
Kelsey F. E. and M. K. Geiling. 1942. J. Pharm. exp. Ther., v. 75, p. 183.
Kenamore B. 1940. Am. J. Dig. Dis., v. 7, p. 539.
Kent P. W. 1963. Gastroenterology, v. 42, p. 292.
Kern F., L. Steinman and B. B. Sanders. 1961. J. Lipid Res., v. 2, p. 51.
Kern F., J. E. Struthers and W. L. Attwood. 1963. Gastroenterology, v. 45, p. 477.
Kiefer E. D. 1934. Am. J. Surg., v. 25, p. 530.
Kimble M. S. 1939. J. Lab. and clin. Med., v. 24, p. 1055.
King E. J. and I. D. Wootton. 1956. Microanalysis in Medical Biochemistry. London.
Klose S. und T. Cseffalvay. 1965. Medicamentum, Bd. 6, S. 355.
Klotz A. P. 1964. Am. J. Dig. Dis., v. 9, p. 345.
Klotz A. P. and M. R. Duvall. 1957. J. Lab. Clin. Med., v. 50, p. 753.
Komorowski S. 1966. Wiad. lek., v. 19, p. 215.

Kowlessar O. D. aud R. K. McEvoy. 1956. J. Clin. Invest., v. 35, p. 1325.
Krauel K. K. 1944. J. Lab. and Clin. Med., v. 29, p. 222.
Kronberger L. 1959. Klin. Med., Bd. 9, S. 386.
Kunitz M. 1947. J. Gen. Phys., v. 30, p. 291.
Lambert M. and A. C. Neish. 1950. Can. J. Res., v. 28B., p. 83.
Lambling A., J. R. Gosset et J. J. Bernier. 1953. Arch. Mal. App. Dig., t. 42, p. 885.
Lambling A., J. Badoz-Lambling, R. Lebouc et J. J. Bernier. 1955. C. R. Société de Biologie, t. 149, p. 1953.
Lambling A., J. J. Bernier et J. Badoz-Lambling. 1960. Arch. Mal. App. Dig., t. 49, p. 1073.
Lechin F. 1956. Memoria del V Congreso Panamericano des Gastroenterologia, v. 2, p. 947.
Leevy C. M. 1961. In: Progress in Liver Disease. Ed. H. Popper and F. Schaffner. N. Y.
Legerton Jr. C. W., Jr. E. C. Texter and J. M. Ruffin. 1953. Gastroenterology, v. 23, p. 474.
Lehman K. 1961. Acta med. Scand., v. 169, p. 205.
Levin E. K. 1949. Gastroenterology, v. 12, p. 561.
Levin B., J. B. Kirsner and W. L. Palmer. 1951. Gastroenterology, v. 19, p. 88.
Levy S. H., D. J. Sandweiss, R. A. Gagliardi and H. H. Feigelson. 1958. World Congress of Gastroenterology, v. 1, p. 445, Baltimore (цит. по: Gamble and Wilbur, 1961).
Lindenbaum J. 1965. Brit. Med. J., № 5457, p. 326.
Littman A. and J. Hammond. 1965. Gastroenterology, v. 48, p. 237.
Lopez J. V., B. V. Fuentes and G. M. Prado. 1950. Arch. Mal. App. Dig., v. 39, p. 797.
Lowry O. H., N. J. Rosehrough, A. L. Farr and R. J. Randal. 1957. J. Biol. Chem., v. 1, p. 265.
Machella T. E. In: Bockus, 1964, p. 59.
Maclagan N. F. 1963. Diseases of the Liver, ed. L. Schiff. Philadelphia—Montreal.
Malloy H. T. and K. A. Ewelyn. 1937. J. Biol. Chem., v. 119, p. 481.
Markoff N. und E. Kaiser. 1962. Krankleiten der Leber und der Gallenwege in der Praxis. Methodik, Diagnostik, Therapie. Stuttgart.
Marks J. N., S. A. Komarov and H. Shay. 1958. Am. J. Phys., v. 195, p. 528.
Marks J. N. and S. L. Tompsett. 1958. Quart. J. Med., v. 27, p. 431.
Marshall W. and D. D. Kozoll. 1956. J. Lab. clin. Med., v. 48, p. 924.
Martin C. J., J. Golubov and A. E. Axelrod. 1958. Bioch. Biophys. Acta, v. 27, p. 430.
Mattenheinmer H. 1961. Micromethoden für das Klinisch-chemische und biochemische Laboratorium. Berlin.
Matzner M. J., H. Zarowitz, P. Wedeen and G. C. Cohn. 1952. Gastroenterology, v. 21, p. 419.
Meites S. and C. K. Hogg. 1960. Clin. Chem., v. 6, p. 421.
Mengini G. 1959. Am. J. Dig. Dis., v. 4, p. 682.
Miller T. G. and W. O. Abbot. 1934. Am. J. M. Sc., v. 187, p. 595.
Mirsky I. A., P. Futterman, S. Kaplan and R. H. Broh-Kahn. 1952. J. Lab. Clin. Med., v. 40, p. 17.
Moore S. and W. H. Stein. 1948. J. Biol. Chem., v. 176, p. 367.
Moyer J. H. and C. R. Womack. 1950. Texas J. Med., v. 46, p. 763.
Moyer D. L. and L. J. Zeldis. 1960. Am. J. Gastroent., v. 33, p. 285.
Müller-Wieland K. 1961. Dtsch. med. Wschr., Bd. 86, S. 1217.
Nardy G. 1958. J. Lab. Clin. Med., v. 52, p. 66.
Natelson S. 1961. Microtechniques of Clinical Chemistry. Springfield.
Nelson N. 1944. J. Biol. Chem., v. 153, p. 375.

Nicholson J. T. L. and F. W. Chornock. 1942. J. Clin. Invest., v. 21, p. 505.
Nieburgs H. E., J. L. Werther, F. Hollander and H. D. Janowitz. 1960. Am. J. Dig. Dis., v. 5, p. 63.
Nieburgs H. E., C. Rubio and A. Oppenheim. 1965. Am. J. Dig. Dis., v. 10, p. 485.
Nikoloff N. P. 1965. Zschr. ges. inn. Med., Jg. 20, № 4, S. 117.
Norpoth L., J. Cloesges, M. Finger und M. Schulze. 1952. Dtsch. med. Wschr., Bd. 77, S. 561.
Northman B. E., N. E. Winstone and F. G. Banwell. 1965. In: Recent Advances Gastroenterology, ed. J. Badenoch and B. N. Brooke. Boston, p. 349.
Ottenjann R. 1963. Med. Klin., Bd. 58, S. 1999.
Padycula H. A., E. W. Strauss, A. J. Ladman and F. H. Gardner. 1961. Gastroenterology, v. 40, p. 735.
Page L. B. and P. J. Culver. 1961. Laboratory Examinations in Clinical Diagnosis. Cambridge, Mass. Harvard. Univ. Press.
Palmer E. D. 1963. Clinical Gastroenterology. N. Y.
Pander A., G. Semenza und S. Auricchio. 1963. Schweiz. Med. Wschr., Jg. 93, S. 1272.
Panico F. I., G. N. Papanicolaou, W. A. Cooper. 1950. J. Am. med. Ass., v. 143, p. 1308.
Papanicolaou G. N. 1954. Atlas of exfoliative cytology. Cambridge.
Pelican V., Z. Placer. 1953. Čar. léc. česk., v. 92, p. 1252.
Perman G., R. Gullberg, P. G. Reizenstein, B. Snellman and L. G. Allgen. 1960. Acta med. Scandinav., v. 168, p. 117.
Peternel W. W. 1965. Gastroenterology, v. 48, p. 299.
Pimparkar B. D. In: Bockus, 1964, p. 38.
Pimparkar B. D., E. C. Tulsky, M. H. Kalser and H. L. Bockus. 1961. Am. J. Med., v. 30, p. 910.
Piper D. W. 1960. Gastroenterology, v. 38, p. 616.
Podore C. J., R. H. Broh-Kahn and J. A. Mirsky. 1948. J. Clin. Invest., v. 27, p. 834.
Polachek A., B. Glyde, R. Cope, F. Willard and W. Barves. 1959. Gastroenterology, v. 37, p. 38.
Pollard M. 1962. Dtsch. med. Wschr., Bd. 20, S. 1033.
Prader A. and S. Auricchio. 1965. Ann. Rev. Med., v. 16, p. 345.
Preisich P., J. Kiss and S. Monay. 1965. Acta ternü conv. med. int., p. 841.
Prockop D. J. and S. A. Udenfriend. 1961. Anal. Biochem., v. 1, p. 228.
Prockop D. J., H. R. Keiser and A. Sjoerdsma. 1962. Clin. Res., v. 9, p. 331.
Rajan K. T., P. S. S. Rao, I. Ponnusamy and S. J. Baker. 1961. Brit. M. J., v. 5218, p. 29.
Reichard H. 1957a. Scand. J. Clin. Lab. Inv., v. 9, p. 103.
Reichard H. 1957b. Scand. J. Clin. Lab. Inv., v. 9, p. 311.
Reichard H. and P. Reichard. 1959. J. Lab. Clin. Med., v. 52, p. 709.
Reitman S. and S. Frankel. 1957. Am. J. Clin. Path., v. 28, p. 56.
Renger F. 1966. Lehrbuch und Atlas der laparaskopischen Diagnostik. Jena.
Rodriguez G. E., D. Cantor, M. Royer. 1962. Acta Physiol. Latinoamer., v. 12, p. 400.
Roe J. H. and E. W. Rice. 1948. J. Biol. Chem., v. 173, p. 507.
Ronský R. and I. Scála. 1961. Čas. Lék. česk, v. 27—28, p. 866.
Rosenberg C. A., N. D. Lee and P. Martignoni. 1956. Proc. Am. Fed. Clin. Res., v. 4, p. 39.

Rosenthal M. and H. F. Traut. 1951. Cancer, v. 4, p. 147.
Ross J. R. and V. A. Moore. 1961. Gastroenterology, v. 40, p. 113.
Ross J. R. and V. A. Moore. 1963. In: Current Gastroenterology, ed. G. McHardy. N. Y., p. 529.
Roth J. L. A. and A. C. Ivy. 1945. Gastroenterology, v. 5, p. 129.
Rothman M. M. and A. B. Katz. In: Bockus, 1964, p. 694.
Rouiller C. H. 1964. The liver Morphology, Biochemistry, Physiology, v. 2. N. Y.—London.
Rovelstad R. A. 1963. Gastroenterology, v. 45, p. 90.
Royer M., O. Croxatto, L. Biempica and B. A. Morrison. 1955. Prensa Med. Argent., v. 42, p. 2515.
Royer M., L. Biempica, E. A. Cabanne and M. Rapaport. 1959. Proc. World. Congr. Gastroenterology, Baltimore, v. 2, p. 909.
Rubin C. E. and E. P. Benditt. 1955. Cancer, v. 8, p. 1137.
Rubin C. E., L. L. Brandborg, A. L. Flick, P. C. Phelps, C. Parmantier and S. van Niel. 1962. Gastroenterology, v. 43, p. 621.
Rubin C. E., L. L. Brandborg, P. C. Phelps and H. C. Taylor. 1960. Gastroenterology, v. 38, p. 28.
Rubin C. and W. Dobbins. 1965. Gastroenterology, v. 49, p. 676.
Ruffin J. M. 1963. In: Current Gastroenterology, ed. G. McHardy. N. Y., p. 539.
Ruffin J. M., I. C. Keever, C. Cheens, W. W. Shingleton, G. J. Baylin, J. D. Isley and A. P. Sanders. 1958. Gastroenterology, v. 34, p. 484.
Saleh A. 1962. Med. Welt., Bd. 3, S. 152.
Santini R., E. Perez-Santiago, M. de Jesus and C. E. Butterworth. 1957. Am. J. Dig. Dis., v. 2, p. 663.
Santini R., J. Aviles and T. W. Sheehy. 1960. Am. J. Dig. Dis., v. 5, p. 1059.
Santini R., T. W. Sheehy and M. de Jesus. 1961. Gastroenterology, v. 40, p. 772.
Saxon E. I., W. C. Hinkley, M. S. Vogel and L. Zieve. 1957. A.M.A Arch. Int. Med., v. 99, p. 607.
Saxon G. J. 1914. J. Biol. Chem., v. 17, p. 102.
Schacter D. 1959. J. Lab. Clin. Med., v. 53, p. 557.
Schacter D. 1963. The medical clinics of North America. The liver and its diseases. ed. S. E. Bradlev, v. 47, p. 621.
Schade R. O. 1960. Gastric Cytology. London.
Scherlock S. 1962. J. Clin. Path., v. 15, p. 291.
Scherrick J. C. and de la Huerga. 1961. Measurements of Exocrine and Endocrine Functions of the Pancreas, ed. F. W. Sundermann and F. W. Sundermann. Philadelphia—Montreal.
Schiff L. 1963. Diseases of the Liver. Philadelphia—Montreal.
Shinovara G. Y. 1954. Am. J. Clin. Path., v. 24, p. 696.
Schmid M. 1961. Schweiz. med. Wschr., Bd. 91, S. 617.
Schmid R. 1956. Sciences, v. 124, p. 76.
Schoenheimer R. and W. M. Sperry. 1934. J. Biol. Chem., v. 106, p. 745.
Schwachman H., S. Farber and C. L. Maddock. 1943. Am. J. Dis. Child., v. 64, p. 418.
Schwachman H., H. Leubner and P. Catzel. 1955. In: Adcances in Pediatrics, Chicago, v. 7, p. 249.
Schwachman H., P. R. Patterson and J. Laguna. 1949. Pediatrics, v. 4, p. 222.
Schwartz S., V. Sborov and C. J. Watson. 1944. Am. J. Clin. Path., v. 14, p. 598.

Segal H. L., L. L. Miller and L. J. Morton. 1950. Proc. Soc. Exper. Biol., v. 74, p. 218.
Segal H. L., L. L. Miller and E. J. Plumb. 1955. Gastroenterology, v. 28, p. 402.
Sevela M., J. Tovarek. 1959. Čas. lěc. čes., v. 98, p. 844.
Shaffer C. B. and F. H. Critchfield. 1947. J. Am. Pharm. A., v. 36, p. 152.
Sheehy T. W. 1962. Gastroenterology, v. 42, p. 148.
Sheehy T. W. and P. R. Anderson. 1965. Lancet, v. II, p. 1.
Sheehy T. W., M. S. Artenstein and R. W. Green. 1964. J. Am. Med. Ass., v. 190, p. 1023.
Sheehy T. W. and M. H. Floch. 1964. The Small Intestine. N. Y.
Sherlock S. 1965. Jaundice. In: Recent Advences in Gastroenterology, ed. J. Badenoch. Boston.
Shively J. A. and R. L. Markey. 1952. Am. J. Clin. Path., v. 22, p. 1220.
Shiner M. 1956a. Lancet, v. 1, p. 85.
Shiner M. 1956b. Lancet, v. 1, p. 17.
Shiner M. 1957. Gastroenterology, v. 33, p. 64.
Shiner M., T. Waters and J. D. Gray. 1963. Gastroenterology, v. 45, p. 625.
Shingleton W. W., M. H. Wells, G. J. Baylin, J. M. Ruffin and A. Saunders. 1955. Surgery, v. 38, p. 134.
Sibley J. A. and A. L. Lehninger. 1949. J. Biol. Chem., v. 177, p. 859.
Sievers M. L., N. I. Yallagher. 1959. Gastroenterology, v. 37, p. 182.
Sims F. H. and C. Horn. 1958. Am. J. Clin. Path., v. 29, p. 412.
Sjovall J. 1955a. Studies on bile Acid metabolism. Diss. Lund.
Sjovall J. 1955b. Arkiv Kemi, v. 8, p. 299.
Sjovall J. 1955c. Arkiv Kemi, v. 8, p. 317.
Smyth R. L. 1958. Brit. Med. J. ,v. 1, p. 1336.
Smyth B. W. and J. H. Roe. 1949. J. Biol. Chem., v. 179, p. 53.
Sommerhalder M., C. Kuenzle, J. Rattner and C. Maier. 1962. Helv. Med. Acta, v. 29, p. 607.
Somogyi M. 1938. J. Biol. Chem., v. 125, p. 399.
Somogyi M. 1960. Clin. Chem., v. 6, p. 23.
Sun D. C. and H. Shay. 1957. J. Appl. Physiol., v. 11, p. 148.
Sun D. C. H. and H. Shay. 1960. Gastroenterology, v. 38, p. 570.
Talafant E. 1956. Nature, v. 178, p. 312.
Taplin G. V., O. M. Meredith, H. Kade and Ch. C. Winter. 1956. J. Lab. Clin. Med., v. 48, p. 886.
Taplin G. V., O. M. Meredith and H. Kade. 1959. Ann. N. Y. Acad. Sci., v. 78, p. 872.
Taylor W. H. 1959. Biochem. J., v. 71, p. 384.
Theil G. B., F. L. Benoit and R. H. Watten. 1963. Am. J. Dig. Dis., v. 8, p. 1008.
Tomenius J. 1949. Gastroenterology, v. 12, p. 623.
Tomenius J. 1950. Gastroenterology, v. 15, p. 498.
Trier J. S. 1962. Gastroenterology, v. 42, p. 295.
Trier J. S., P. C. Phelps and C. E. Rubin. 1963. J. Am. Med. Ass., v. 183, p. 768.
Van Itallie B. and S. A. Hashim. 1963. The medical cliniks of North America. The liver and its diseases. Ed. S. E. Bradley, v. 47, p. 629, Philadelphia—London.
Van de Kamer J. H., B. Huinink and H. A. Weijers. 1949. J. Biol. Chem., v. 177, p. 347.
Vinnik I. E. and F. Kern. 1962. Gastroenterology., v. 43, p. 507.
Vogt D. K. and K. Stehr. 1956. Med. Wschr., Bd. 10, S. 154.

Watson D. 1960. Clin. Chem. Acta. v. 5, p. 613.
Webb R. L. 1965. Am. J. Med. Techn., v. 25, p. 179.
Weber H. 1963. Klin. Wschr, Bd. 41, S. 37.
Weijers H. A., J. H. Van de Kamer, D. A. A. Mossel and W. K. Dicke. 1960. Lancet, v. 2, p. 296.
Welin G. and A. R. Frisk. 1936. Acta Med. Scand., v. 90, p. 543.
Wenger J., J. B. Kirsner and W. L. Palmer. 1957. Am. J. Med., v. 22, p. 373.
West P. M., F. W. Ellis and B. L. Scott. 1952. J. Lab. Clin. Med., v. 36, p. 159.
Westphal K., W. Kuckuck. 1933. Reizmag. Zschr. Klin. Med., Bd. 124, S. 537.
White L. P. 1956. New England J. Med., v. 255, p. 984.
White D., G. A. Haidar and J. G. Reinhold. 1958. Clin. Chem., v. 4, p. 211.
Wilson T. H. 1962. Intestinal Absorption. Philadelphia—London.
Wirts C. W. 1961. Measurements of Exocrine and Endocrine Functions of the Pancreas ed. ,F. W. Sundermann and F. W. Sundermann. Philadelphia—Montreal.
Wirts C. W. and B. K. Braford. 1948. J. Clin. Inv., v. 27, p. 600.
Wiseman G. 1964. Absorption from the Intestine. London—N. Y.
With T. H. 1942. Zchr. physiol. Chem., Bd. 275, S. 180.
Wolf H. P., G. A. Forster und F. Leuthard. 1957. Gastroenterologia, Bd. 84, S. 172.
Wood J., R. K. Doig, R. Motteran and A. Hughes. 1949. Lancet, N 6540, p. 18.
Wroblewski F. 1959. Am. J. Med., v. 27, p. 911.
Wroblewski F. and J. S. LaDue. 1955. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., v. 90, p. 210.
Wu C. and J. Sung. 1962. Gastroenterology, v. 42, p. 580.
Wyngaarden J. B., S. Segal and J. B. Foley. 1957. J. Clin. Invest., v. 36, p. 1395.
Zak B., R. C. Dickenman, E. G. White, H. Burnett and P. J. Cherrey. 1954. Am. J. Clin. Path., v. 24, p. 1307.
Zamchek N. 1962. Am. J. Dig. Dis., v. 7, p. 968.
Zetterqvist H. and T. R. Hendrix. 1960. Bull. Johns Hopkins Hosp., v. 106, p. 240.
Zilwersmit D. B. and A. K. Davis. 1950. J. Lab. Clin. Med., v. 35, p. 155.
Zipf R. F., B. J. Katchman and G. M. Homez. 1961. Measurement of Exocrine and Endocrine Function of the Pancreas, ed. F. W. Sundermann and F. W. Sundermann. Philadelphia—London.
Zuppinger K., R. Richterich und E. Rossi. 1962. Schweiz. med. Wschr., Bd. 92, S. 169.
Young L. E., R. W. Davis and J. Hogestyn. 1949. J. Lab. Clin. Med., v. 34, p. 287.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Стр.

Александр Михайлович Уголев, Наталья Николаевна Иезуитова,
Цезарь Генрихович Масевич, Тамара Яковлевна Надирова,
Нина Михайловна Тимофеева

Исследование пищеварительного аппарата у человека

Обзор современных методов

Утверждено к печати Объединенным научным советом «Физиология человека и животных»
Академии наук СССР

Редактор издательства *С. И. Налбандян*
Художник *И. П. Кремлев*
Технический редактор *Н. А. Кругликова*
Корректоры *Ж. Д. Андронова, Л. Я. Комм* и *Г. А. Мошкина*

Сдано в набор 13 XI 1968 г. Подписано к печати 8/IV 1969 г. РИСО АН СССР № 33-76В. Формат бумаги 60×90¹/₁₆. Бум. л. 6³/₄. Печ. л. 13¹/₂ = 13.50 усл. печ. л. Уч.-изд. л. 14.61. Изд. № 4056. Тип. зак. № 1392. М-12465. Тираж 2000.
Бумага № 1. *Цена 1 р. 12 к.*

Ленинградское отделение издательства «Наука»
Ленинград, В-164, Менделеевская лин., д. 1

1-я тип. издательства «Наука». Ленинград, В-34, 9 линия, д. 12

Стр.

а,

вотных»

ССР
печ. л.

1 р. 12 к.



ИЗДАТЕЛЬСТВО
•НАУКА•
ЛЕНИНГРАДСКОЕ
ОТДЕЛЕНИЕ

ИССЛЕДОВАНИЕ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО АППАРАТА У ЧЕЛОВЕКА